

Thromboresistente Polymer- oberflächen

von

Holger Brauner

aus

Bad Elster

1976

1077 1034

Thromboresistente Polymer- oberflächen

**Den Naturwissenschaftlichen Fachbereichen
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
zur
Erlangung des Doktorgrades**

**vorgelegt
von
Holger Brauner
aus
Bad Elster**

Thromboresistente Polymer- oberflächen

Den Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
zur
Erlangung des Doktorgrades

Als Dissertation genehmigt von den Naturwissenschaftlichen
Fachbereichen der Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung

28-10-1976

Vorsitzender der Promotionskommission

Prof. Dr. H. Remmert

Erstberichterstatte

Prof. Dr. M. Schaldach

Zweitberichterstatte

Prof. Dr. G. Hesse

Herrn Prof. Dr. Ing. M. Schaldach bin ich für die Ermöglichung dieser Arbeit zu Dank verpflichtet.

Herrn Prof. Dr. med. G. Harbauer danke ich herzlich für die ausgezeichnete Betreuung, die Anleitung zum kritischen medizinischen Experimentieren, für zahlreiche Anregungen und nützliche Diskussionen während der in vivo Untersuchungen.

Herrn Prof. Dr. phil. G. Hesse möchte ich für die Übernahme des zweiten Referates danken.

INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
B. GRUNDLAGEN UND ENTWICKLUNG BLUTVERTRÄGLICHER KUNSTSTOFFE	4
1. Reinheitskriterien bei der Synthese und der Verarbeitung von Hochpolymeren	6
2. Grundlagen der Hämostase	11
3. Entwicklungsstand blutverträglicher Materialien	21
C. ELEKTROCHEMISCHE KRITERIEN FÜR THROMBORESISTENTE MATERIALIEN	33
1. Potentialverhältnisse an gerinnungsaktiven Substanzen	33
2. Folgerungen aus der bisherigen Entwicklung	38
3. Redoxkatalysatoren	42
4. Elektrochemische Eigenschaften der Redoxkatalysatoren	59
5. Auswahl geeigneter Redoxkatalysatoren für in vitro und in vivo Versuche	68
D. PFROPFREAKTIONEN AUF POLYMERMATRIZEN	70
1. Auswahl geeigneter Kunststoffe	70
2. Reaktive Voraussetzungen an FeOPc und ESTANE 5707 F 1	74
3. Verknüpfungsreagenzien und Pfropfreaktionen	77
4. Ergebnisse und Vergleich mit AVCOTHANE	81
E. PRÜFUNG DER GERINNUNGSEHMMENDEN EIGENSCHAFTEN	87
1. Prüfung der postulierten Umsetzungen	87
2. Entwicklung eines in vitro Testverfahrens zur Bestimmung der Thromboresistenz	90
3. In vivo Untersuchung der Thromboresistenz am System FeOPc ESTANE mit einem neuen Verfahren und Vergleich zum GOTT-Test	98

F. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	107
G. EXPERIMENTELLE DATEN	111
H. ZUSAMMENFASSUNG	120
I. VERWENDETE SYMBOLE	122
J. LITERATUR	125

A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Für ca. 60 000 Menschen in der Bundesrepublik Deutschland ist ein elektronischer Herzschrittmacher lebensnotwendig. Mehreren tausend Personen kann jährlich durch den Einsatz künstlicher Herzklappen geholfen werden. 1975 benötigten 4215 an chronischem Nierenversagen Erkrankte ca. 700000 Dialysiermembranen, um an der künstlichen Niere ihre Vitalfunktionen aufrecht zu erhalten. In vielen Fällen sind Venen und Arterien infolge sklerotischer Veränderungen so weit geschädigt, daß ein Totalersatz durch Gefäßprothesen erforderlich wird. Während operativer Eingriffe am Herz und Kreislaufsystem findet die Versorgung des Blutes mit dem lebensnotwendigen Sauerstoff in extrakorporaler Zirkulation durch Oxigeneratoren statt.

In den erwähnten chirurgischen Ersatzteilen und Organsubstituten sind synthetische Polymere häufig in funktionstragender Weise beteiligt. Der besondere Vorteil der Chemiewerkstoffe als Implantatmaterial liegt in der Vielzahl der bei geringem Gewicht realisierbaren Eigenschaften. Polymere lassen sich in weiten Bereichen von elastisch bis hart, hydrophil bis hydrophob, löslich bis unlöslich und thermoplastisch bis duroplastisch darstellen. Durch dieses Eigenschaftsspektrum ist die anwendungsorientierte Werkstoffauswahl außerordentlich erleichtert.

Für die Erfordernisse der plastischen und rekonstruktiven Chirurgie sowie für Substitute im Gewebe oder im Haltungs- und Bewegungsapparat steht heute tatsächlich eine Vielzahl von implantierbaren Kunststoffen zur Verfügung. Bei der Anwendung im vaskulären Bereich treten den guten mechanischen Eigenschaften dieser Substanzen aber Wechselwirkungen mit dem Blut gegenüber, die den Erfolg, insbesondere von Langzeitimplantaten, in Frage stellen. Während die Verhältnisse im natürlichen Kreislaufsystem einen zeitlich unbegrenzten Kontakt zwischen der Gefäßwand und den Blutbestandteilen gestatten - die Gerinnungszeit ist praktisch unendlich - tritt bei Anwesenheit künstlicher Oberflächen in vivo als auch in vitro bereits innerhalb kurzer Zeit die Koagulation des Blutes ein. Die Gerinnungszeit ist materialabhängig. Ein Beispiel für den massiven Einfluß des Gerinnungssystems auf das spezielle Implantat ist die in Abb. 1 dargestellte durch thrombotische Ablagerungen funk-

tionsunfähig gewordene künstliche Herzklappe.



Abb. 1 Durch Thrombose funktionsunfähig gewordene künstliche Herzklappe (1). Ein Thrombus zwischen Kugel und Käfig fixiert die Kugel im geöffneten Zustand. Da der Thrombus hierbei an der Klappe lokalisiert bleibt, ist durch eine rechtzeitige Reoperation die Rettung des Patienten möglich. Thromben, die sich von der Klappe ablösen können zu tödlichen Hirnembolien führen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit besteht darin, durch geeignete Oberflächenbehandlung der bekannten Polymere die materialspezifischen Wechselwirkungen mit dem Koagulationssystem zu vermeiden.

Aus der Diskussion der notwendigen Grundlagen über Struktur, Darstellung und Verarbeitung der eingesetzten Polymere lassen sich Kriterien ableiten, denen ein erfolgreich implantierbarer Kunststoff genügen muß.

Die ausführliche Darstellung der Vorgänge im natürlichen Koagulationssystem liefert Anhaltspunkte darüber, welche Reaktionsschritte in der Gerinnungskaskade irreversibel sind. Hieraus läßt sich eine Arbeitshypothese finden, welche Reaktionen an thromboresistenten Materialien nicht ablaufen dürfen.

In der Diskussion der bisherigen Entwicklungen blutverträglicher Oberflächen kann pyrolytischer Kohlenstoff als einziges Material mit akzeptablen Langzeiterfolgen festgestellt werden. Aus dem Versagen aller polymeren Strukturen läßt sich der Schluß ziehen, daß für permanente Thromboresistenz eine aktive Beteiligung der synthetischen Oberfläche am Stoffwechselgeschehen ausgenutzt werden muß.

Das Problem besteht in der Suche nach geeigneten Oberflächenreaktionen oder dynamischen Ad- und Desorptionsvorgängen. Dabei führt das elektrochemische Verhalten der Blutbestandteile automatisch zu Redoxkatalysatoren. Dieser Ansatz wird durch die blutverträglichen und elektrokatalytischen Eigenschaften des pyrolytischen Kohlenstoffs bestärkt.

Die Entwicklung der kovalenten Verknüpfung solcher Redoxkatalysatoren mit polymeren Trägern in Form einer Pfpoffreaktion beschränkt die thromboresistente Ausrüstung auf den oberflächennahen Bereich und läßt die von der Polymermatrix vorgegebenen Eigenschaften weitgehend unbeeinflusst.

Mit Hilfe speziell für die Untersuchung von polymeren Proben entwickelten Methoden läßt sich die Auswahl geeigneter Polymermatrizen durch die Bestimmung der Spontangerinnungszeit *in vitro* vereinfachen. Durch Dispersion der Katalysatoren in der Polymermatrix besteht die Möglichkeit, mit dem gleichen Verfahren den bezüglich der Thromboresistenz aktivsten Redoxkatalysator herauszufinden. Darüber hinaus liefern diese Messungen Hinweise über das zu erwartende Verhalten des kovalent gebundenen Katalysators *in vivo*.

Tatsächlich kann mit einem in Zusammenarbeit mit der Abteilung für klinisch experimentelle Chirurgie der Universität des Saarlandes entwickelten *in vivo* Versuchsmodell die hohe Thromboresistenz des mit einem Redoxkatalystor kovalent verknüpften Kunststoffes bestätigt werden.

B. GRUNDLAGEN UND ENTWICKLUNG BLUTVERTRÄGLICHER KUNSTSTOFFE

Die Anwendung synthetischer Polymere hat in fast allen Bereichen der Medizin in den letzten Jahren in zunehmendem Maße an Bedeutung gewonnen. So ermöglicht z. B. der Einsatz von Einwegartikeln aus preiswerten Kunststoffen eine rationelle und ökonomische Arbeitsweise in der klinischen Routine. Im Bereich der plastischen und rekonstruktiven Chirurgie sind Chemiewerkstoffe durch ihr günstiges Verhältnis zwischen Gewicht und den benötigten physikalischen und chemischen Eigenschaften anderen Substanzen wie Metallen und Keramik überlegen. Darüber hinaus ist in einigen Fällen der Organ- bzw. Funktionsersatz durch die Anwendung speziell konstruierter Polymerer überhaupt erst möglich geworden; Beispiele hierfür sind die künstliche Niere, Oxigenatoren, Gefäßprothesen und Cornea-implantate

Die Synthese neuer Makromoleküle begann vor etwa 30 Jahren in größerem Umfang. Seit dieser Zeit fordern die verschiedenen Zweige der verarbeitenden Industrie teils aus Kostengründen, teils um weitere Anwendungsbereiche zu erschließen, immer mehr neue Polymere als sogenannte Kunststoffhalbzeuge. Die dadurch zur Verfügung stehende Vielzahl von Makromolekülen unterschiedlichster Eigenschaften hat sich für die Verwendung in der biomedizinischen Technik als richtungsweisend gezeigt. Nur so ist die enge Kopplung zwischen der Entwicklung künstlicher Organe und anderer Funktionssubstitute mit den Ergebnissen der Polymerforschung und der Kunststofftechnologie zu verstehen. Wie weit die Polymerchemie mit ihren Produkten bereits in die Medizin eingedrungen ist, zeigt unter besonderer Berücksichtigung implantierbarer Substanzen die Tab. 1. Aufgeführt sind: die Bezeichnungen der Makromoleküle nach der rationellen Nomenklatur, deren internationale Kurzbezeichnung, bedeutende Hersteller, deren Handelsnamen und die medizinische Anwendung.

rationeller Name	Kürzel	Handelsname	Hersteller	Anwendung
Cellulose	--	CUPROPHAN	Eka-Glanzstoff	Folien und Schläuche als Austauschmembran für künstliche Nieren
Epoxidharze	EP	HY SOL	Houghton Lab.	Vergußmaterial für Schrittmacherschaltungen, starre Teile künstlicher Versuchsherzen
Polyamide	PA	VESTAMID	Ch. W. Huls	Spritzen, Drainagen, Katheter, Blutkontaktmaterial als -Benzyl-L-glutamat-L-leucinopolymere, Hautersatzmaterial
Polyacrylamid	--	ACRYLAMIDE	Polyscience	Gewebsimplantate, Austauschmembranen für künstliche Nieren, Corneaimplantate, als Blutkontaktmaterial vorgesehen
Polycarbonat	PC	LEXAN	Gen. Electric	starre Teile künstlicher Versuchsherzen, Trägermaterial für Graphitbeschichtungen für venöse Implantate, modifiziert als Austauschmembran für Nieren
Polyäthylen	PE	RCH 1000	Ruhrchemie AG	Spritzen, Drainagen, Katheter, Schläuche, als HDPE Pfannennmaterial für künstl. Hüftgelenke, Lagermaterial bei künstlichen Kniegelenken
Polyäthylenglykol-terephthalat	PETP	IMERUM	Du Pont	gewebt oder gestrickt erfolgreicher Einsatz als großlumige arterielle Substitution, als Velour auch für das venöse System vorgeschlagen, Nahtmaterial an fast allen Prothesen
Polyäthylmethacrylat	PMMA	PLEXIGLAS	Röhm & Haas	erstes Blutkontaktmaterial (HUFNAGEL 1947), Zement für künstl. Hüft- und Kniegelenksimplantate, rekonstruktives Zahnmaterial
Polypropylen	PP	POLY PRO	Gulf Oil	Spritzen, Drainagen, Katheter, Pfannennmaterial für künstl. Hüften, als Velour Bestandteil von Blutkontaktmaterialien, ebenso als kurze dünne Faser in den sogenannten Mikrofasergestrukturen
Polystyrol	PS	HOSTYREN	Hoechst	rekonstruktives Zahnmaterial, Gewebsimplantate, sulfoniert als Blutkontaktmaterial vorgeschlagen
Polytetrafluoräthyl	PTFE	TEFLON	Du Pont	Kugeln und Scheiben für künstl. Herzklappen, Lagermaterial für künstl. Hüft- und Kniegelenke
Polyurethan	PUR	ESTANE	Goodrich	Drainagen, Katheter, insbesondere Ballonkatheter für die IABP, Blutkontaktmaterial und Austauschmembran für künstliche Nieren
Polyvinylchlorid	PVC	HOSTALIT	Hoechst	wichtigstes Kathetermaterial, Schlauchverbindungen
Polydialkyl(aryl)siloxane	SI	SILASTIC	Dow Corning	Gewebsimplantate, Drainagen, Spritzen, Austauschmembranen für Oxygenatoren, Kabelummüllungen für Schrittmacherelektroden, Ventilkörper für Herzklappenprothesen, bewegliche Teile von Versuchsherzen

Tab. 1 Verbreitung industrieller Kunststofftypen in der Medizin.

1. Reinheitskriterien bei Synthese und Verarbeitung von Hochpolymeren

Die meisten der zur Verfügung stehenden implantierbaren Materialien, die für die vorliegende Problemstellung ausschließlich Berücksichtigung finden können, führen bei längerem Kontakt mit dem biologischen Medium zu unterschiedlichen Behandlungsergebnissen. Klarer sind diese Unterschiede, wenn für die gleiche Therapie verschiedene Chargen ein und desselben Kunststoffes zur Anwendung gelangen. Zum Verständnis dieser Unregelmäßigkeiten sind einige Details der Synthese und der Verarbeitung von Makromolekülen notwendig. Grundlagen und präparative Methoden der Polymerchemie, soweit sie nicht speziell diese Arbeit betreffen, werden als bekannt vorausgesetzt.

Im Gegensatz zu Metallen und Keramik lassen sich Kunststoffe nicht hochgereinigt darstellen. Entsprechend den angewandten Herstellungsmethoden: Polymerisation, Polyinsertion, Polykondensation und den gewählten Reaktionsbedingungen: Druck, Dauer, Katalysator und Temperatur sind typische Abberationen von der idealen Makromolekel zu erwarten. Hierzu zählen unbeabsichtigte Vernetzungen und Verzweigungen, Strukturunregelmäßigkeiten, Katalysator-, Monomer- oder Lösungsmittelrückstände sowie Abweichungen vom erwarteten Molekulargewicht und der Molekulargewichtsverteilung. Die Bedeutung der Reaktionsbedingungen für die Eigenschaften des entstehenden Makromoleküls läßt sich, wie in Tab. 2 dargestellt, gut an den unterschiedlichen Kunststoffkennwerten nach verschiedenen Verfahren hergestellter Polyäthylene zeigen. Die Tab. 2 weist das unter schonenden Bedingungen hergestellte Material als den erheblich wertvolleren Werkstoff für die biomedizinische Technik aus.

Die ersten in der Medizin angewandten Kunststoffe unterschieden sich noch nicht von den für den technischen Gebrauch bestimmten und enthielten eine Reihe von Kunststoffhilfsmitteln zur Erzielung

bestimmter mechanischer, physikalischer und chemischer Eigenschaften wie Antioxidantien (Hydrochinon), Stabilisatoren (metallorganische Verbindungen), Weichmacher (Dioctylphthalat), Pigmente (Tindioxid) und Füller (Ruß).

Diese niedermolekularen Bestandteile können ebenso wie die erwähnten reaktionsbedingten Aberrationen neben metallischen oder ölige Abriebe und Zersetzungsprodukten, die sich durch die Bearbeitungsmaschinen im Konfektionierungsprozeß ergeben, im biologischen Milieu zu entzündlichen, allergischen oder toxischen Reaktionen führen; sie sind eine der Ursachen für die beobachteten Therapievarianzen.

Aus den dargelegten Beobachtungen ergeben sich daher folgende Anforderungen, denen erfolgreich implantierbare Kunststoffe genügen müssen:

- keine carcinogenen, toxischen sowie Entzündungen, Allergien oder Antikörperreaktionen erregende Bestandteile.
- die gewünschten mechanischen, physikalischen und chemischen Eigenschaften, um den Anforderungen im Organismus zu genügen.
- reproduzierbar als reines Material darstellbar.
- ohne Veränderung der vorgegebenen Eigenschaften formbar.
- resistent gegen Veränderungen durch die biologische Umgebung.
- ohne Änderung der Form oder der Eigenschaften sterilisierbar.

Für die Anwendung im Gewebe und im Haltungs- und Bewegungsapparat lassen sich nach den der vorliegenden Arbeit zugrunde gelegten Darstellungskriterien bereits einige Kunststoffe auswählen.

Hierzu gehören Polyäthylen und Polypropylen, die durch Polyinsertion mit Hilfe von ZIEGLER-NATTA-Katalysatoren stereospezifisch

G.1

$$U = M_w/M_n$$

(M_w =Gewichts-, M_n =Zahlenmittel des Molekulargewichts)

und mit geringer Molekularuneinheitlichkeit U darstellbar sind.

Reaktionsbedingungen	LDPE	HDPE	Einheit
Druck	1 500	1	atm.
Katalysator	O ₂ ; 0,05	Al(C ₂ H ₅) ₃ /TiCl ₄ ; 0,4/0,25	%
Lösungsmittel	ohne	Dieselöl	
Temperatur	180	75	° C
Umsatz	20	100	%
Eigenschaften			
Molekulargewicht	10 000	bis 1 000 000	gMol ⁻¹
MG-Verteilung	breit	eng	
Verzweigungsgrad	hoch	sehr niedrig	
Schmelztemperatur	115	132	° C
Dichte	0,92	0,96	gcm ⁻³
Zugfestigkeit (80° C)	20	100	kpcm ⁻²
Grenzbiegespannung	70	400	kpcm ⁻²
Torsionssteifheit	600	4 000	kpcm ⁻²
Kugeldruckhärte (10 Min)	160	600	kpcm ⁻²

Tab. 2 Eigenschaften von Polyäthylenen in Abhängigkeit vom Herstellungsverfahren. Die Tabelle weist das unter schonenderen Bedingungen hergestellte Polyäthylen hoher Dichte (HDPE-High Density Polyethylene) als das Produkt mit deutlich besseren Eigenschaften gegenüber dem bei hohen Drucken und Temperaturen erhaltenen LDPE aus.

Polyamide und Polyurethane lassen sich durch die Grenzflächenpolykondensation unter schonenden Bedingungen erhalten. Polyäthylenglykol und Polydimethylsiloxan (PDMS) entstehen durch Lösungskondensation unter ähnlich milden Reaktionsbedingungen. PDMS muß für die meisten medizinischen Anwendungen noch zu Siliconkautschuk vernetzt werden. Hierzu eignet sich Bis-2,4-dichlorbenzoylperoxid bei Temperaturen um 100 °C, wobei der Katalysator in

Form von Kohlendioxid und 1.3-Dichlorbenzol das fertige Vulkansat verlassen kann.

Bei den genannten Chemiewerkstoffen wird die Beeinflussung des Wirtskörpers durch die Makromoleküle weitgehend vermieden, dagegen befindet sich das Implantat im permanenten enzymatischen Angriff des Organismus. Um einen Eindruck von der Wirksamkeit der Enzyme zu geben, sind in der folgenden Tabelle die Zugspannung und

MATERIAL		ZUGSPANNUNG kpcm ⁻²	BRUCHDEHNUNG %
PE	Kontrolle	190	780
	17 Monate	136	420
PETP	Kontrolle	1265	100
	17 Monate	1296	100
PA	Kontrolle	654	550
	17 Monate	366	140
PDMS	Kontrolle	66,8	800
	17 Monate	65,4	890

Tab. 3 Einfluß der biologischen Umgebung auf die Eigenschaften von Kunststoffen (nach ASTM-Werten). Angegeben sind Zugspannung und Bruchdehnung von Gewebeimplantaten nach einem Zeitraum von 17 Monaten im Vergleich zu nicht implantierten Kontrollprüflingen. Erwartungsgemäß zeigen hydrophile mit körpereigenen Bindungen ausgestattete Polymere die stärksten Degradationserscheinungen (PA), aber auch reaktionsinerte hydrophobe Materialien (PE) unterliegen dem enzymatischen Angriff. Am widerstandsfähigsten sind hydrophobe Chemiewerkstoffe mit organismusfremden Bindungen (PDMS).

Bruchdehnung vor und nach 17-monatiger Gewebeimplantation einiger Materialien angegeben.

Wie erwartet unterliegen biologisch ähnliche Substanzen wie Polyamide der stärksten Degradation. Der Körper ist aber auch in der Lage, chemisch inerte Materialien wie Polykohlenwasserstoffe abzubauen. Nach halbjähriger Gewebeimplantation von C¹⁴ markiertem Polyäthylen ließ sich im Urin des Versuchstiers Aktivität nach-

weisen (2). Nur PDMS ist aufgrund der organismusfremden Siloxanbindung gegenüber dem Abbau resistent.

Nach den bisherigen Ausführungen ließe sich die Entwicklung blutverträglicher implantierbarer Materialien mit möglichst inerten unter reproduzierbaren Bedingungen rein herstellbaren und zu verarbeitenden Polymeren denken. Doch im Blut befinden sich hochorganisierte Protein und Zellverbände, die neben den Transportfunktionen für den Stoffwechsel eine Reihe weiterer lebenswichtiger Aufgaben übernehmen. Dazu gehören die Regulation des pH-werts und des osmotischen Drucks des Blutes sowie der Transport von Ionen, Hormonen, Lipoiden und Vitaminen. Darüber hinaus erfolgt auch die Regulation der Gerinnung, die Abwehr der Invasion von Fremdproteinen oder Mikroorganismen durch das Blut. Schließlich ist auch die Katalyse einiger Stoffwechselreaktionen im Blut möglich, da sich einige Enzyme auch ohne gehäuftten Zellerfall im Serum finden. Jede Störung, Einschränkung oder Unterbindung auch nur einer dieser Blutfunktionen durch ein implantiertes Polymer führt zu fatalen Folgen. Blutverträgliche Kunststoffe müssen demnach über die vorher für Gewebeimplantate definierten hinaus noch einigen weiteren Forderungen genügen. Insbesondere darf das Makromolekül

- weder Thrombosen auslösen noch den normalen Koagulationsmechanismus positiv oder negativ katalysieren.
- keine Immunreaktionen veranlassen.
- keine Veränderungen der nativen Konformation der Proteine bewirken.
- keinen Einfluß auf das Zellwachstum und die Zellspezialisierung besitzen.
- nicht mit dem Elektrolyt-, Gas- oder Alimentationsstoffwechsel interferieren.

Die Bedingung der Blutverträglichkeit schränkt nicht nur die Zahl der verwendbaren Polymeren, sondern auch ihre Bearbeitungsmöglichkeiten ein. Beispielsweise kann es beim Extrudieren oder Kalandrieren von PE durch thermische Oxidation zur Bildung von Hydroxyl-, Carbonyl- oder Carboxylgruppen kommen. Auf diese Weise entsteht eine mit dem unbearbeiteten Kunststoff nicht mehr vergleichbare Oberflächenstruktur, die für das Versagen in vivo verantwortlich ist. Aus diesen Gründen existiert bis heute kein Polymer, das alle aufgeführten Kriterien befriedigend erfüllt.

Nicht der Antikörper bildende Apparat, der dem Organismus zur Kontrolle bzw. zur Beseitigung körperfremder Substanzen dient, sondern das Gerinnungssystem begrenzt den Einsatz von synthetischen Polymeren im Blutkontakt in einschneidender Weise. Die Wechselwirkungen mit dem jeweiligen Implantat sind so gravierend, daß technische Therapeutica, wie etwa das künstliche Herz, unrealistisch bleiben, bis die Problematik der künstlichen Oberfläche in ihrer Wechselbeziehung zu den plasmatischen und zellulären Elementen des Blutes gelöst ist. Als weitere Grundlagen sind daher Kenntnisse über die Wirkungsweise des hämostatischen Systems notwendig.

2. Grundlagen der Hämostase

Der Organismus verfügt über mehrere Mechanismen, bei Verletzungen die Blutstillung zu gewährleisten; die Gefäßkontraktion, die Bildung eines Thrombozytenpfropfes und die Blutgerinnung. Das Ineinandergreifen dieser drei Systeme läßt sich nach dem Eröffnen einer Mesenterialvene demonstrieren. Wenige Sekunden nach der Gefäßverletzung lagern sich Thrombozyten an den Wundrändern an. Etwa 30 Sekunden danach hat ein Thrombozytenpfropf die Wunde

und häufig auch das gesamte Gefäß verschlossen. Gleichzeitig kontrahieren sich die verletzte Vene und die benachbarte Arterie. Die Adhäsion der Plättchen erfolgt durch den Kontakt mit Substanzen, wahrscheinlich Kollagen, die im intakten Gefäßsystem nicht vorkommen (3). Die der Adhäsion folgende Aggregation ist mit morphologischem Strukturverlust der Thrombozyten gekoppelt. Es kommt zu Freisetzung der in den zytoplasmatischen Körnchen befindlichen stark arachidonsäurehaltigen Phospholipoiden (4).

Die sofortige Blutstillung durch die Thrombozyten ist für den zeitlichen Ablauf von entscheidender Bedeutung; die Blutgerinnung garantiert jedoch erst den dauerhaften Verschuß der Wunde. Dazu enthält das Plasma, dessen Eiweiß-Zusammensetzung im Immunelektrophorogramm (vgl. Abb. 2) angegeben ist, dreizehn zum Teil in

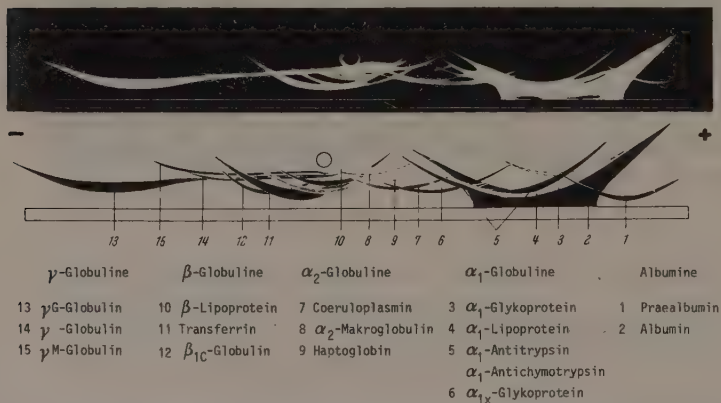


Abb. 2 Ermittlung der Proteinkörperverteilung im menschlichen Serum durch Immunelektrophorese. Der Kreis entspricht der Auftragsstelle des Serums, das Rechteck am unteren Rand dem vorgelegten Anti-Humanserum. Wo Antikörper und Serumproteine durch Diffusion zusammentreffen, bilden sich charakteristische, sichelförmige Präzipitatbanden, deren Flächen der Konzentration des jeweiligen Proteins proportional sind (5).

sehr geringer Konzentration vorkommende Faktoren, die nach Art einer Kettenreaktion die lokale Blutgerinnung verursachen.

Dieser Vorgang endet mit dem Verschuß des Defektes. Als Kittsub-

dem HAGEMAN-Faktor, der sich nach Kontakten mit Glas, Kieselsäure, Fettsäuren aber auch Defekten der Gefäßwand umwandelt. Hiernach läßt sich der HAGEMAN-Faktor als das oberflächensensitive Protein der Enzymkette verstehen. Gegen diese Annahme sprechen hämatologische Befunde bei Patienten mit congenitaler Mangelproduktion des Faktors XII, bei denen keine charakteristisch langen Blutungszeiten wie bei Hämophiliepatienten beobachtet werden. Der Faktor XIIa aktiviert den PTA (Plasmathromboplastinantecedent), er wandert in der β - γ -Region der Elektrophorese und hat ein Molekulargewicht von 210 000 g/mol; ein Fehlen verursacht Blutungsverlängerungen (6). Im stehenden Blut erfolgt die Aktivierung langsamer aber ebenfalls spontan. Aktivierter PTA wandelt den CHRISTMAS-Faktor in Gegenwart von Ca^{2+} -Ionen um. Diese Reaktion läßt sich durch Diisopropylfluorophosphat hemmen, d. h. PTA gehört wahrscheinlich zur Gruppe der Serin-Enzyme. Der CHRISTMAS-Faktor selbst ist ein stabiles Glykoprotein der α_1 und α_2 -Region, für seine Biosynthese ist Vitamin K erforderlich, sein Fehlen ist identisch mit dem Krankheitsbild der Hämophilie B. Zur Aktivierung des Antihämophilie-Faktors (AHF) der β -Region vom Molekulargewicht $2 \cdot 10^6$ g/mol sind neben Ca^{2+} -Ionen Lipidfaktoren aus dem Serum oder den Blutplättchen notwendig. Das Fehlen des Antihämophilie-Faktors ist die Ursache für die klassische erbliche Bluterkrankheit oder Hämophilie A. Neben dem AHF bindet der CHRISTMAS-Faktor noch den STUART-PROWER-Faktor, ein α -Globulin, das sich außer durch den aktivierten AHF auch durch andere proteolytische Enzyme wie Trypsin und Papain aktivieren läßt. Der aktive Komplex aus CHRISTMAS-Faktor, AHF und STUART-PROWER-Faktor, in der älteren Nomenklatur auch Produkt I genannt, wandelt sich unter dem Einfluß eines Lipids aus dem Serum oder den Thrombozyten und Ca^{2+} -Ionen in ein Produkt II um. Produkt II wird durch Accelerin, dem aktivierten Proaccelerin, einem Protein, das zwischen den β - und γ -Globulinen wandert, zur Umwandlung des Prothrombins befähigt. Diese Phase ist noch umstritten. Bekannt ist die letzte Reaktion, in der der aktive STUART-PROWER-Faktor allein Prothrombin enzymatisch in Thrombin umwandelt. Diese Reaktion ist außerordentlich langsam und daher physiologisch nicht

wirksam, wie es die schweren Blutungen beim Fehlen des Faktors V aufgrund einer Erbkrankheit beweisen. Ein Komplex aus Faktor Xa, Va, Lipid und Ca^{2+} -Ionen beschleunigt die Reaktion auf den 10^4 - 10^6 fachen Wert.

Die Lipid-Micellen haben einen Durchmesser von 250 Å. Die Membran der Micellen besteht aus Phospholipid-Molekülen mit variablen Ladungen zur Bindung der Ca^{2+} -Ionen und hydrophilen Anteilen zur Fixierung des Faktors V. Die Kopplung des Faktors Xa läßt sich experimentell nachweisen: Die in wässriger Lösung dispersen unlöslichen Phospholipide können vom löslichen Xa in der Ultrazentrifuge getrennt werden. In der Gegenwart von Ca^{2+} -Ionen wird Xa wegen der Bindung an das Lipid mit abgetrennt. Durch Verdünnen, Dialyse oder Komplexieren der Ca^{2+} -Ionen mit Oxalat, Zitrat oder EDTA läßt sich Xa wieder abtrennen, ohne seine Aktivität und die Fähigkeit zur Bindung an das Phospholipid zu verlieren. Die Lipidoberfläche ermöglicht eine optimale Anordnung der aktiven Proteine zur Kopplung mit Prothrombin und dessen Spaltung (4). Mit der Bereitstellung eines zur Prothrombinumwandlung geeigneten Komplexes ist die Vorphase oder 1. Stufe der Gerinnung beendet.

Prothrombin besteht aus einer einzigen Peptidkette vom Molekulargewicht 72 000 g/mol (7). Es wandert als α_1, α_2 -Globulin und kommt in einer Konzentration von etwa 150 µg/ml im Plasma vor. Die Umwandlung des Prothrombins in das Thrombin ist bekannt und in Abb. 4 dargestellt. Nach Abspaltung des Fragmentes A mit N-terminalem Alanin, bestehend aus 155 Aminosäureresten, fünf Disulfidbindungen und zwei der drei Kohlenhydratreste, verbleibt das Neothrombin S mit Serin am N-terminalen Ende. Das danach abgespaltene Fragment S besteht aus 120-122 Aminosäuren mit 3 Disulfidbrücken und Serin am Amino-Ende. Das verbleibende Protein heißt nun Neothrombin T (T für N-terminales Threonin), es trägt 4 Disulfidbindungen und den dritten Kohlenhydratrest und besteht aus 308 Aminosäuren. Aktives Thrombin entsteht durch Proteolyse zwi-

schen Argenin und Isoleucin der 49. und der 50. Aminosäure der Kette. Die Aminosäuresequenz des Thrombins ist vollständig geklärt. Die A-Kette hat eine negative Ladung von $4.5e^-$ bei einem pH-Wert von 6.5. Die B-Kette enthält am Carboxylende Serin. Beide

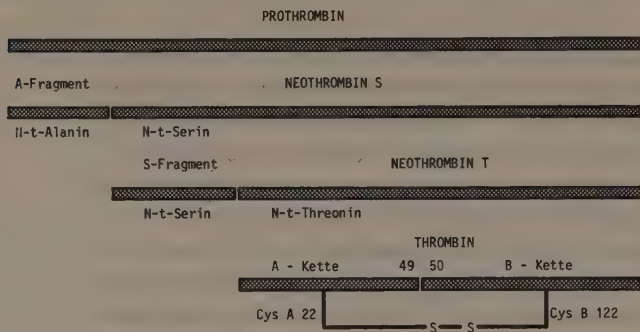


Abb. 4 Bildung des Thrombins aus dem Prothrombin.

Nach zweifacher Polypeptidabsplaltung (A-Fragment und S-Fragment) entsteht das Neothrombin T mit L-Threonin am N-terminalen Ende der Peptidkette. Thrombin bildet sich durch eine Peptidsplaltung ohne Substanzverlust zwischen den Aminosäuren 49 und 50; die entstehende A-Kette ist durch eine Disulfidbrücke des Cysteins an Position 22 über das Cystein 122 mit der B-Kette verbunden.

Ketten sind über den Cysteinrest in der Position 22 (Cys A 22) und den Cysteinrest in der B-Kette an der Stelle 122 (Cys A 122) verbunden. Die Aktivität des Thrombins verschwindet bei der Zerstörung der Aminogruppe des Isoleucins mit Nitrit; dies legt die Vermutung nahe, daß das aktive Zentrum des Thrombins durch Salzbildung der α -Aminogruppe mit der β -Carboxylgruppe der Asparaginsäure direkt neben dem Serin gebildet wird, gleichzeitig fixiert diese ionische Bindung die Tertiärstruktur des Proteins. Thrombin hat neben den bekannten proteolytischen Eigenschaften auch die Fähigkeit einer Esterase. Im Plasma aktiviert es die Faktoren V, VIII und XIII, seine wichtigste Aufgabe ist jedoch, die Polymerisation des Fibrinogens in der dritten Phase der Blutgerinnung zu ermöglichen.

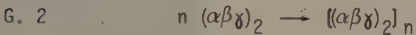
Aufgrund seiner hohen Konzentration von 2-3 mg/ml im Plasma ist das zwischen den β - und γ -Globulinen wandernde Fibrinogen trotz seines hohen Molekulargewichts von 340 000 g/mol gut bekannt (3, 4,

7, 8). Es besteht, wie die schematische Darstellung (vgl. Abb. 5) zeigt, aus 3 Paaren von Peptidketten gemäß der Formel $[\alpha(A)\beta(B)\gamma]_2$.



Abb. 5 Schematische Darstellung des Fibrinogenmoleküls.
Die Molekel setzt sich aus sechs paarweise gleichen Aminosäureketten zusammen, die durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind.

Thrombin spaltet die Fibrinopeptide (A) und (B) ab, dadurch entstehen zunächst Fibrinmonomere, die gemäß



zum Fibrin polymerisieren. Die α -, β - und γ -Ketten des Fibrinogens sind durch Disulfidbrücken verbunden, die sich am Aminoende häufen. Elektronenoptisch erscheint (vgl. Abb. 6) das Molekül hantelförmig mit einer weiteren kugeligen Verdickung in der Mitte. Thrombin spaltet in einer schnellen Reaktion zwei A-Peptide, etwas langsamer zwei B-Peptide von den N-terminalen Kettenenden ab, deren Sequenz im oberen Teil der Abb. 6 angegeben ist. Die γ -Ketten sind gegen den Angriff des Thrombins resistent. Das hochspezifische Thrombin spaltet nur die Peptidbindung zwischen Arginin und Glycin. Das A-Peptid ist an einer äußeren, das B-Peptid an der mittleren Kugeloberfläche lokalisiert. Nach der Abspaltung der Peptide erfolgt die Polymerisation durch End zu End und Seit zu Seit Anordnung. Zunächst entstehen Linearpolymere, die sich rasch zu Faserbündeln zusammenschließen (vgl. Abb. 6). Die Struktur ist bereits gut definiert, wird jedoch nur durch Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert. Dieses Fibrin ist in 5 - molarer Harnstofflösung oder 1 %-iger Monochloressigsäure löslich und für die normale Blutgerinnung ungenügend fest. In der letzten Reaktion der Kette katalysiert daher der aktive fibrinstan-

- (A) Ala-Asp-Ser-Gly-Glu-Gly-Asp-Phe-Leu-Ala-Glu-Gly-Gly-Gly-Val-Arg-Gly-
 (B) Pyr-Gly-Val-Asp-Asp-Asp-Glu-Glu-Gly-Phe-Phe-Ser-Ala-Arg-Gly-
 Tyr-Val-Ala-Thr-Arg-Asp-Asp-Cys-Cys-Ile-Leu-Asp-Gly-Arg-Phe-Gly-Ser-

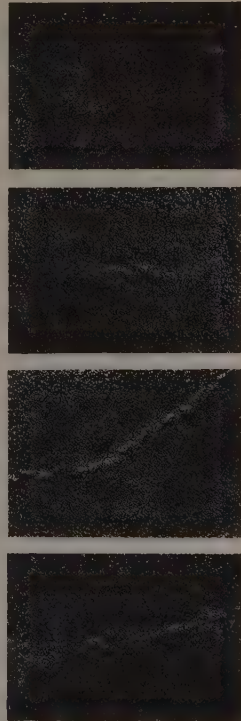
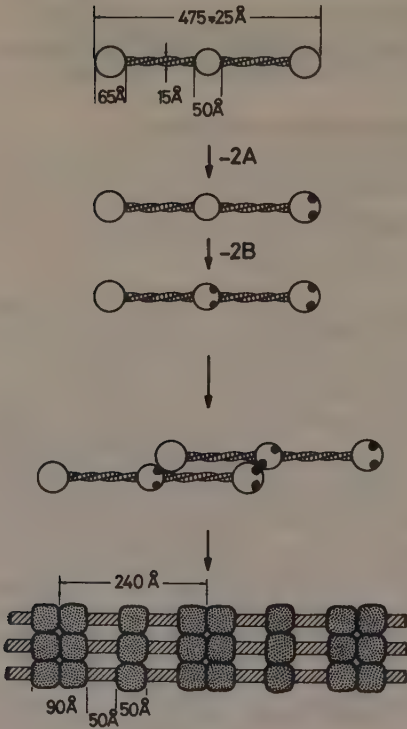


Abb. 6 Darstellung der Fibrinpolymerisation.

Im oberen Teil der Abb. sind die Aminosäuresequenzen der α -, β - und γ -Ketten vom N-terminalen Ende aus angegeben. Die Spaltstellen durch das Thrombin entsprechen den eingezeichneten Pfeilen. Thrombin hydrolysiert die Bindung zwischen Arginin und Glycin der α - und β -Kette, die γ -Kette enthält diese Aminosäurekombination nicht und ist gegen Thrombin resistent. Die Polymerisation erfolgt durch End-zu-End- und Seit-zu-Seit-Anlagerung der Fibrinmonomeren. Die Abmessungen entstammen den rechts abgebildeten elektronenmikroskopischen Aufnahmen (8). Das Fibrinpolymerisat erscheint nach Kontraktion der Verbindungshelices zwischen den kugelförmigen Erweiterungen quergestreift.

bilisierende Faktor (FSF), eine Aminoacyltransferase, unter Ammoniakabspaltung die Bildung von kovalenten Bindungen zwischen den freien ϵ -Aminogruppen des Lysins eines Fibrinmonomers mit den Amidgruppen der Glutaminreste eines anderen Fibrinmonomers. Dadurch geht das Fibrin unter gleichzeitiger Kontraktion der zwischen den kugelförmigen Ausstülpungen befindlichen Faserfibrillen in den unlöslichen, gerinnungswirksamen Zustand über. Die Aufgabe der gesamten dazwischen geschalteten Enzymkette besteht in der Verstärkung des auslösenden Ereignisses auf den 10^4 bis 10^6 -fachen Wert.

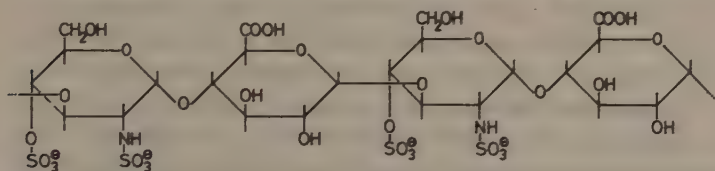


Abb. 7 Bisher bekannte Struktur des Heparins.

Das Mucopolysaccharid vom MG 17 000-20 000 g/mol besteht aus Sulfonylaminoglucose und Schwefelsäureestern der Glucuronsäure. Die Monosaccharideinheiten sind durch 1-4-1-4 glykosidische Bindungen verknüpft. Der Gehalt an Schwefelsäure ist mit 4-5 Molekülen pro Tetrasaccharidkörper hoch; die Stellung der Sulfatreste kann variieren.

Aus der Darstellung der enzymatischen Gerinnungsvorgänge lassen sich für die vorliegende Arbeit folgende Schlüsse ziehen: Da die Eiweißgerinnung als hochspezifische räumlich orientierte Reaktion auf der Oberfläche der den Thrombozyten entstammenden Lipidmicellen abläuft, erscheint die Darstellung antithrombogener Eigenschaften durch die Bindung natürlicher Antithrombine an künstliche Oberflächen aussichtslos. Darüber hinaus unterliegen die Proteine einem ständigen Auf- und Abbau, was eine zeitlich unbegrenzte Wirkung an der Polymeroberfläche ausschließt. Aus diesem Grunde läßt auch die Anwendung von Enzymen des wenig untersuchten fibrinolytischen Systems keine besseren Ergebnisse erwarten.

Als wichtigstes Ergebnis der Diskussion muß die Tatsache bewertet werden, daß es zur Erzeugung antithrombogener Eigenschaften ausreicht, die Bildung von gerinnungswirksamen Fibrin zu verhindern.

Der Beweis läßt sich über das Enzymsystem Ancrod der maleiischen Grubenotter führen. Ancrod spaltet aus dem Fibrinogen nur die Fibrinopeptide A ab, dadurch ist die Polymerisation zum Fibrin nicht mehr möglich. Tatsächlich bewirkt der Biß dieser Schlange tagelang anhaltende Gerinnungsstörungen (9). Ähnliche Störungen erzeugt das in den Mastzellen gebildete Heparin. Es handelt sich um ein saures Mucopolysaccharid noch nicht ganz aufgeklärter Struktur aus mehrfach mit Schwefelsäure verestertem Glucosamin und L-Iduron- oder D-Glucuronsäure in 1-4-1-4-Verknüpfung (vgl. Abb. 7) vom Molekulargewicht 17 000-20 000 g/mol. Heparin hemmt, wie in Abb. 3 gekennzeichnet, nicht nur die Aktivierung der Faktoren X und II, sondern auch die Bildung des löslichen Fibrins. Mit Heparin ausgerüstete Polymere weisen dementsprechend antithrombogene Eigenschaften auf, mit dem erwähnten Nachteil des biologischen Abbaus. Für zeitlich unbegrenztes blutverträgliches Verhalten ist demnach ein System erforderlich, das die Fibrinbildung verhindert und in der biologischen Umgebung stabil bleibt. Um Anhaltspunkte für ein solches System zu finden, und um Fehlentwicklungen zu vermeiden, sollen im folgenden die bisherigen Bemühungen, das Problem der thromboresistenten Polymeroberfläche zu lösen, erläutert werden.

3. Entwicklungsstand blutverträglicher Materialien

Es sind eine Reihe von Ansätzen bekannt geworden, die gerinnungshemmenden Eigenschaften des Heparins für die Entwicklung blutverträglicher Materialien zu nutzen. Darüber hinaus erlaubten erstmals die Untersuchungen von SAWYER, BRATTAIN und BODDY (10), die an Metallimplantaten in der Aorta und der Vena cava von Versuchstieren fanden, daß Metalle mit negativem Normalpotential thromboresistent, solche mit positivem Normalpotential thrombogen sind, eine elektrochemische Erklärung der Thromboseauslösung. Diese Ergebnisse lösten eine Reihe von Kunststoffentwicklungen mit inkorporierten negativen Ladungen aus. Unabhängig davon bemühten sich andere Arbeitsgruppen, das Problem der Blutgerinnung an synthetischen Oberflächen mit biologischem oder biologisiertem Material zu lösen. Gemeinsam mit den sogenannten reaktionsinerten Materialien läßt sich nach den hier getroffenen Einteilungskriterien die folgende Übersicht geben (Tab. 4).

HEPARINISIERTE	BIOLOGISIERTE	INERTE	POLARISIERTE, LADUNGEN TRAGENDE
ionisch	auto-, homo- und heterologe	Silicone	Elektrete
kovalent	Implantate	Polyurethane	anionische
inkorporiert	Polypeptide	Hydrogele	polarisierte
	Strick- und Web- strukturen		pyrolitischer Kohlenstoff
	Mikrofasern		

Tab. 4 Entwicklungsübersicht blutverträglicher Materialien.

Im folgenden werden die wichtigsten Arbeiten der einzelnen Gruppen zusammengestellt.

Heparinisierte Materialien

Die ersten erfolgversprechenden Ergebnisse bei der Anwendung von Heparin auf synthetische Polymere erzielten GOTT et al. (11) durch GRAPHIT-BENZALKONIUMCHLORID-HEPARIN (GBH)- Oberflächen. Auf PC-Ringen (LEXAN) läßt sich durch Tauchen in äthanolische kolloidale Graphitlösung (DAG 154) nach 48-stündiger Trocknung bei 55°C in einem Abluftofen eine zusammenhängende Graphitschicht erzeugen. Nach zweistündigem Behandeln dieser Ringe in einer 0,1 %-igen Benzalkoniumchloridlösung, Spülen mit physiologischer Kochsalzlösung, und einstündiger Nachbehandlung in einer 0,06 %-igen Lösung von Heparin in physiologischer Kochsalzlösung bleiben die Ringe in dem von den gleichen Autoren entwickelten Vena-cava-Ring-Test (s.E.3) über einen Zeitraum von zwei Stunden völlig thrombenfrei. Eine 20-minütige Vakuumtrocknung der Ringe bei 90°C und 250 Torr ist ohne Einfluß auf dieses Ergebnis. Während alle anderen Behandlungsverfahren, z.B. Dampf- oder Äthylenoxidsterilisation die Thromboresistenz verschlechtern.

In Abb. 8 sind die Ergebnisse aus (11) und (12) zusammengestellt, um die Terminologie und die Darstellungsform dieses am häufigsten durchgeführten Tests zur Beurteilung blutverträglicher Materialien einzuführen. Deutlich läßt sich eine gewisse Unzuverlässigkeit dieses Tests am Beispiel der doppelt umrahmten Kästchen demonstrieren. Trotz gleicher Präparation - lediglich der polymere Träger ändert sich - ergeben sich sehr unterschiedliche Befunde bezüglich der Thromboresistenz.

Die GBH-Behandlung ist auf starre Materialien beschränkt. Bei Biegebeanspruchungen platzen dicke Graphitschichten ab, dünne Schichten lassen sich nicht oberflächendeckend darstellen. Andere Verfahren das Heparin auf flexible synthetische Polymere zu binden schließen die vorherige Graphitisierung aus. Es besteht die Möglichkeit, Heparin ionisch oder kovalent mit bestimmten Polymeroberflächen zu verknüpfen, oder einfach im Block des Polymeren zu

Graphitbeschichtung alle Ringe PWMA	Zeit h	Thrombus im Ringlumen	Implantatbehandlung alle Ringe PC durch Tauchen graphitbeschichtet	Zeit h	Thrombus im Ringlumen unbehandelt	Zeit h	Thrombus im Ringlumen mit Heparin	Zeit h	Thrombus im Ringlumen Benzalkonium und Heparin
Graphitschicht durch Aufpinseln	1	○ ○ ○ ○ ○	unbehandelt	1	● ● ● ● ●	1		1	
	2	○ ○ ○ ○ ○		1,5	● ● ● ● ●	1,5	● ● ● ● ●	1,5	a
		○ ○ ○ ○ ○		2	● ● ● ● ●	2	● ● ● ● ●	2	○ ○ ○ ○ ○
Graphitschicht durch Tauchen	1	○ ○ ○ ○ ○	90° C, Vakuum	1	● ● ● ● ●	1		1	
	2	○ ○ ○ ○ ○		1,5	● ● ● ● ●	1,5	d d d d	1,5	a
		○ ○ ○ ○ ○		2	● ● ● ● ●	2	● ● ● ● ●	2	○ ○ ○ ○ ○
negativ gepolte Graphitringe (-3 V)	1	○ ○ ○ ○ ○	1) 20 min, 120° C 2) 2 h, Wasser	1	● ● ● ● ●	1		1	
	2	○ ○ ○ ○ ○		1,5	● ● ● ● ●	1,5		1,5	b b a a
		○ ○ ○ ○ ○		2	● ● ● ● ●	2	● ● ● ● ●	2	○ ○ ○ ○ ○
positiv gepolte Graphitringe (+3 V)	1	● ● ● ● ●		1	● ● ● ● ●	1		1	
	2	● ● ● ● ●		1,5	● ● ● ● ●	1,5		1,5	b b a a
		● ● ● ● ●		2	● ● ● ● ●	2	● ● ● ● ●	2	○ ○ ○ ○ ○

Abb. 8 Zusammenstellung der Vena cava Ring Tests aus (11, 12) nach GOTT und Mitarbeitern. Materialien sind graphitbeschichtete PWMA- und Graphit-Benzalkoniumchlorid-Heparin behandelte PC-Ringe. Die geschwärzten Bereiche in den Kreisen entsprechen der Thrombenmenge im Lumen der Ringe nach der jeweiligen Versuchsdauer. Verbal erfolgt die Charakterisierung der Thromboresistenz durch die Begriffe: ausgezeichnet (keine oder winzige Thromben, a); gut (kleine Thromben, b); mäßig (deutliche Thromben, c) und gering (thrombotische Stenose, d).

inkorporieren (13, 14, 15). Auch so behandelten Materialien bestätigt der GOTT-Test ausgezeichnete Thromboresistenz. Ebenso wie die GBH-Ringe sind auch die anderen Heparin enthaltenden Systeme eine akzeptable Lösung für Kurzzeitimplantate mit einer maximalen Implantationsdauer von 2-3 Wochen. Permanenter Blutkontakt führt jedoch entweder zum biologischen Abbau, oder zur Blockierung der Enzymwirkung durch irreversible Adsorption von Blutbestandteilen, oder zum Herauslösen des Heparins infolge der hohen Ionenstärke des umgebenden Plasmas.

Biologisierte Oberflächen

Aufgrund der klinischen Ergebnisse an auto-, homo- und heterolog Fascia lata Herzklappenersatz ist diese Methode als gescheitert anzusehen, wobei die Wirkung aber nicht auf das biologische Material, sondern auf die mangelnde Dauerstabilität zurückzuführen ist. Für Gefäßprothesen im arteriellen System bis zu einem Durchmesser von $d = 8 \text{ mm}$ haben sich gestrickte oder gewebte Schläuche aus versponnenen PETP-Fasern bewährt. Das nonthrombogene Verhalten resultiert hierbei nicht aus einer besonderen Eigenschaft des Kunststoffes; es ist im Gegenteil beabsichtigt, die in der Prothese vorhandenen Maschenöffnungen thrombotisch abzudichten. Durch anschließende Thrombolyse und Zelleinwanderung aus dem extravasalen Raum bildet sich nach kurzer Zeit eine Pseudointima. Das Verfahren ist auf das arterielle System und die angegebenen Lumen beschränkt. Bei kleineren Lumen oder bei den geringen Blutflugeschwindigkeiten des venösen Systems führt die beabsichtigte Thrombose bereits zum irreversiblen stenotischen Verschuß.

Inerte Materialien

Die Zielsetzung bei der Verwendung inerter Materialien besteht darin, Reaktionen mit den zellulären Bestandteilen bzw. mit den Proteinen zu vermeiden. Im chemischen Sinne inerte, d.h. reaktionsträge Polymere wie PE, PP und PTFE sind nicht geeignet, da einerseits der Organismus auch für diese Substanzen Lyasen enthält

(vgl. Tab. 3), andererseits Proteine an regelmäßigen, hydrophoben Materialien leicht ihre native Konformation verlieren. Einige PUR verhalten sich dagegen biologisch inert. Zum einen ist die Urethanbindung gegen den hydrolytischen Enzymangriff stabiler als beispielsweise die Peptidbindung, zum anderen wechseln bei bestimmten PUR-Copolymeren ständig hydrophobe und hydrophile Strukturelemente. Außerdem ist die Substanzklasse der PUR besonders vorteilhaft, weil sich durch geeignete Wahl der Alkohol- bzw. der hydroxyfunktionellen Polyäther- oder Polyesterkomponente in Verbindung mit dem eingesetzten Di- oder Triisocyanat die Polymereigenschaften zwischen elastisch und hart, hydrophil und hydrophob und linear und vernetzt einstellen lassen. Über die Blutverträglichkeit der PUR wird im folgenden (D. 1.) Stellung genommen.

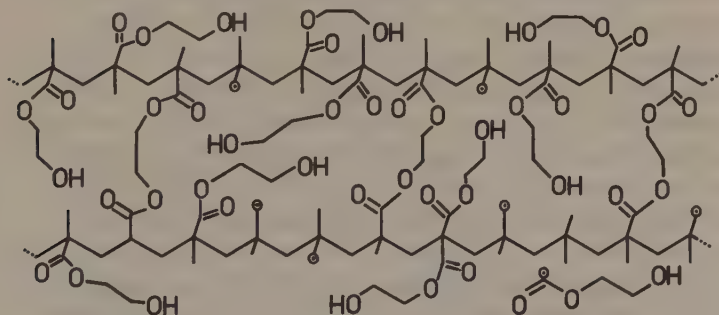


Abb. 9 Struktur und Aufbau des Polyhydroxyäthylmethacrylat (HEMA) Hydrogels. Wie am Beispiel der Ebene dargestellt, erfolgt auch die räumliche Vernetzung der einzelnen Ketten durch Äthylendimethacrylat. Die große Wasserbindungskapazität (bis zu 40 Gew.%) verdanken diese Strukturen den hohen Anteilen polarer, hydrophiler Alkohol- und Estergruppen.

Fast ideale Verhältnisse vom biologischen Standpunkt inerter Oberflächen finden sich bei den sogenannten Hydrogelen. Hierbei handelt es sich um hydrophile makromolekulare Strukturen, die sich mit Wasser- oder Elektrolytgehalten von 35 - 80 % synthetisieren lassen. Von den neutralen Hydrogelen sind Polyhydroxyäthylmethacrylat und Polyacrylamid erwähnenswert. Polyhydroxyäthylmethacrylat entsteht nach Abb. 9 aus Hydroxyäthylmethacrylat mit Äthylendimethacrylat als Vernetzer. Das wasserlösliche Polyacrylamid

läßt sich durch Erhitzen seiner wässrigen Lösungen infolge Ausbildung interchenarer Imidbindungen vernetzen. Beide Materialien weisen nach dem GOTT-Test ausgezeichnete Blutverträglichkeiten auf; sie sind jedoch wegen ihrer spöngiösen Beschaffenheit zur Konstruktion von Organ- oder Funktionssubstituten nicht geeignet. Diese Schwierigkeiten sollen sich durch Propfcopolymerisation von Polyacrylamid auf bestimmte polymere Trägersubstanzen in einer Mikrowellenentladungsröhre umgehen lassen. Experimentelle Daten über derartige Propfcopolymere liegen zur Zeit noch nicht vor.

Ein Material bzw. eine Gruppe von Materialien, die in letzter Zeit im biomedizinischen Sektor Beachtung gefunden haben, sind die AVCOTHANE-Elastomere. Nach Herstellerangaben (16) liegen Blockcopolymere aus PUR und SI vor. Zur Charakterisierung der non-thrombogenen Eigenschaften gibt der Hersteller die in vitro gemessene LEE-WHITE-Gerinnungszeit größer als 45 Minuten, typisch jedoch mit 60 Minuten, an. In vivo wird über folgendes Experiment berichtet: Zwergschweine bekommen die Aorta thoratica descendens auf eine Strecke von 12 Zentimetern durch einen Schlauch aus AVCOTHANE der Länge $l = 125$ mm, des Durchmesser $d = 18$ mm und der Wandstärke $w = 0,5$ mm ersetzt. Nach 110 Tagen unter üblichen Lebensbedingungen der Tiere weisen die explantierten Prothesen weder Thromben oder Fibrinablagerungen auf noch ergibt die pathologische Untersuchung Infarkte der Lunge oder der Niere. Darüber hinaus ließ der Schlauch keinen erkennbaren Abbau oder Veränderungen der elastischen Eigenschaften durch die lange Verweildauer im biologischen Medium erkennen (17). Aufgrund dieser Publikationen sollte AVCOTHANE als elastisches Vergleichsmaterial zu den Elastomeren dieser Arbeit benutzt werden. Eine analytische Untersuchung (vgl. D. 4.) zeigt jedoch, daß AVCOTHANE weder die postulierte Struktur aufweist noch die angegebenen Komponenten enthält; auch die durchgeführten Gerinnungstests lassen keine besondere Thromboresistenz erkennen.

Polarisierte oder negative Ladungen tragende Polymere

Den negativ zur Blutseite polarisierten oder negative Ladungen enthaltenden Materialien liegt die Idee zugrunde, die elektrischen Gegebenheiten der natürlichen Gefäßwand nachzubilden (vgl. C.1.). In diese Gruppen gehören neben den Electreten und sulfonierten oder carboxylierten Kunststoffen prinzipiell sämtliche polare Bindungen enthaltende Polymere, wie Cellulose, PA, PTFE, PETP, PUR usw. Speziell unter der Zielsetzung einer verbesserten Blutverträglichkeit durch die Polarisierung ist nur

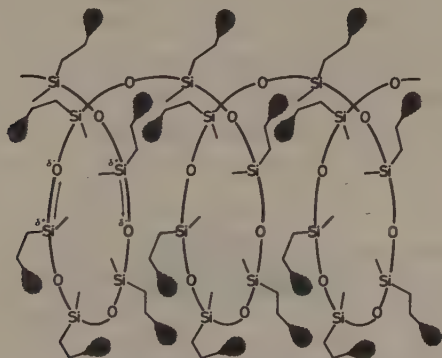


Abb. 10 Struktur und Konformation des Polytrifluorpropylmethylsiloxans
Dieser neuen Form der konformativen Darstellung liegt die durch Spreitungsmessungen gestützte Annahme zugrunde, daß Polydimethylsiloxane bevorzugt eine 6_1 -Helix einnehmen. Einerseits ist diese Lage durch innere Dipolkompensation der Si^+-O^- -Dipole energetisch begünstigt (Pfeile), andererseits können so die negativ polarisierten Trifluormethylgruppen den größtmöglichen räumlichen Abstand einnehmen. Daraus resultiert zwangsläufig eine erhöhte Aufenthaltswahrscheinlichkeit dieser Gruppen an der Oberfläche des Polymeren.

das Polytrifluorpropylmethylsiloxan (vgl. Abb. 10) synthetisiert worden. Bekanntlich liegt die Hauptkette der Siloxane in einer Wendel (6_1 Helix), dadurch besetzen die durch die hohe Elektro negativität der Fluoratome negativ polarisierten CF_3 -Gruppen den größten Teil der Oberflächenplätze. Gegen die Erwartung weist nun aber nicht das reine Trifluorpropylmethylsiloxan die besten thromboresistenten Eigenschaften auf, sondern Copolymerisate desselben mit PDMS im Verhältnis 65/35.

Ebenfalls in diese Gruppe gehören die eine negative Überschußladung tragenden Hydrogele, wie beispielsweise die Gemische aus Na-Polystyrolsulfonat mit Polyvinylbenzyltrimethylammoniumchlorid, deren Struktur in Abb. 11 dargestellt ist. Die Graphik im unteren Teil der Abbildung zeigt die nach dem GOTT-Test ermittelten Blutverträglichkeiten (Quadrate) in Abhängigkeit von der Überschußladung und der Konzentration der Sulfonsäuregruppen im minimal feuchten Zustand (= Gleichgewicht in wässriger Lösung). Die Meß-

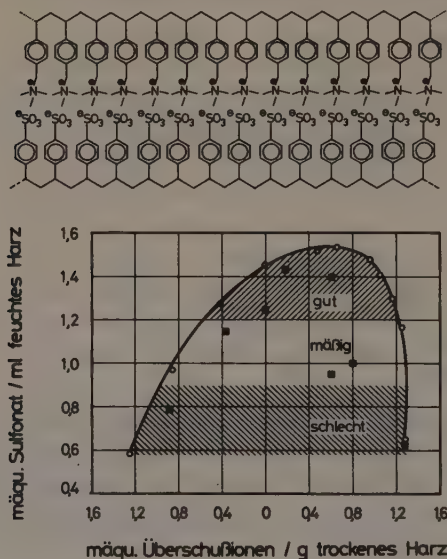


Abb. 11 Struktur und optimale Ladungsträgerverteilung am IOPLEX 101. Die Wasserbindungskapazität kann bis zu 80 Gew.% betragen; sie beruht auf den Sulfonatgruppen und den quartären Ammoniumionen und ist von deren Verhältnis abhängig. Im unteren Teil der Abb. ist nach (18) die Konzentration der Sulfonsäuregruppen im Gleichgewichtszustand der Wasseraufnahme in Abhängigkeit der Milliäquivalente Überschußionen bezogen auf das trockene Harz dargestellt. Die schraffierten Bereiche geben die erreichte Thromboresistenz nach dem GOTT-Test an.

punkte der Blutverträglichkeit liegen unterhalb der Gleichgewichtskurve, da das Hydrogel im Elektrolytkontakt mehr Wasser aufnimmt. Der Graphik läßt sich entnehmen, daß das thromboresistente

Verhalten mehr von der Konzentration der Sulfonatgruppen als der negativen Überschußladung abhängt. Bei zunehmender negativer Überschußladung vergrößert sich die Elektrolytaufnahmekapazität, daher sinkt die effektive Sulfonatkonzentration und die Thromboresistenz nimmt ab.

Alle polarisierten und negative Ladungen enthaltende Polymere zeigen bei kurzen Implantationsdauern gute Blutverträglichkeit. Jedoch verschlechtert sich die Thromboresistenz schneller als bei den heparinisierten Materialien. Dieses Verhalten läßt sich durch Adsorption von Blutbestandteilen an den fixierten polaren Gruppen und negativen Ladungen und die dadurch bedingte Abschirmung des elektrostatischen Feldes erklären. Der Zeitverlauf der Thromboresistenz hängt von Art, Konzentration und Verteilung der Ladungsträger ab.

Pyrolytischer Kohlenstoff

Die Anwendung des ursprünglich zur Kapselung von nuklearen Brennstoffen hergestellten pyrolytischen Kohlenstoffes als Blutkontaktmaterial stellt eine Parallelentwicklung der bereits beschriebenen GBH-Oberflächen dar. Während dem Graphit eine sehr regelmäßige dreidimensionale Struktur zugrunde liegt, ist pyrolytischer Kohlenstoff ein polykristallines Material hoher Störstellenkonzentration. Die Ausdehnung der Kristallitebenen hängt von den Herstellungsbedingungen ab. Innerhalb der Ebenen sind die Kohlenstoffatome durch starke kovalente Bindungen miteinander verknüpft, zwischen den Ebenen wirken ähnlich wie im Graphit schwache van der Waalssche Beziehungen, die aber in den härtesten pyrolytischen Modifikationen durch zahlreiche homöopolare Valenzverzweigungen um ein Vielfaches verstärkt werden. Innerhalb der Ebenen bleibt pro Kohlenstoffatom jeweils ein π -Elektron ungebunden und ist für die hohe aber anisotrope elektrische Leitfähigkeit des pyrolytischen Kohlenstoffs verantwortlich.

Die Pyrolyse läßt sich durch Temperatur, Zusammensetzung der zu pyrolysierenden Kohlenwasserstoffe, Kontaktdauer und Größe der

zu beschichtenden Fläche steuern. Hierdurch ist es u. a. möglich, bestimmte Anordnungen der Kristallite vorauszubestimmen, um Pyrolysate mit isotropen oder anisotropen Eigenschaften zu erhalten. Weitere kontrollierbare Parameter sind Dichte und Kristallitgröße. Kleine Kristallite, hohe Isotropie und hohe Dichte, verbunden mit einer starken Vernetzung zwischen den Ebenen, führen zu den besten mechanischen Eigenschaften mit Bruchspannungen bis zu $7\,000\text{ kp/cm}^2$. Nach den Abscheidungsbedingungen lassen sich Hochtemperatur (HT bei Abscheidungstemperaturen größer als 1500°C) und Niedertemperaturmodifikationen (LT bei Abscheidetemperaturen kleiner als 1500°C) sowie isotrope (HTI, LTI) und laminare (HTL, LTL) Carbone mit bevorzugter Anordnung der Kristallitebenen unterscheiden.

Als Werkstoff im kardiovaskulären System zeigt ein LTI-Kohlenstoff bisher die besten Eigenschaften. Nach Herstellerangaben (19) handelt es sich um ein bei 1350°C abgeschiedenes Produkt mit einer Kristallitgröße von $2,5\text{--}3,5\text{ nm}$ und einem Schichtabstand von 344 pm . Aufgrund dieser Werte entstand in der Abb. 12 ein neues Modell des pyrolytischen Kohlenstoffs (PYC), das die meisten experimentellen Befunde berücksichtigt. Lage und Anzahl der Fehlstellen sind willkürlich, die Abmessungen entsprechen der Kantenlänge des Benzols mit ca. 140 pm . An den Vernetzungen zwischen den Ebenen müssen wegen des Schichtabstandes mindestens zwei sp^3 -hybridisierte C-Atome beteiligt sein; aus diesem Grund geht die ebene Anordnung an diesen Stellen in die Sesselkonformation über. Der angegebenen Kristallitgröße entspricht die Anordnung von 10×12 annelierten Benzolkernen in der Ebene, die in $8 - 10$ Schichten übereinanderliegen.

Die π -Elektronen sind über das gesamte annelierte System delokalisiert und bilden eine negative Raumladungswolke oberhalb und unterhalb der Ebenen. An den Grenzen der Ebenen können sich neben den C-Brücken zu benachbarten Kristalliten Hydroxyl-, Carbonyl-, Carboxyl- oder Lactonfunktionen befinden, deren Art und Konzentration von den Abscheidungsbedingungen abhängen. In den LTI-Typen herrschen hauptsächlich CH-Bindungen vor. Durch bestimmte Oxidati-

onismethoden wie Sulfonierung - KCN-Schmelze - Hydrolyse lassen sich aber auch andere Funktionen, z.B. Carboxylgruppen einführen.

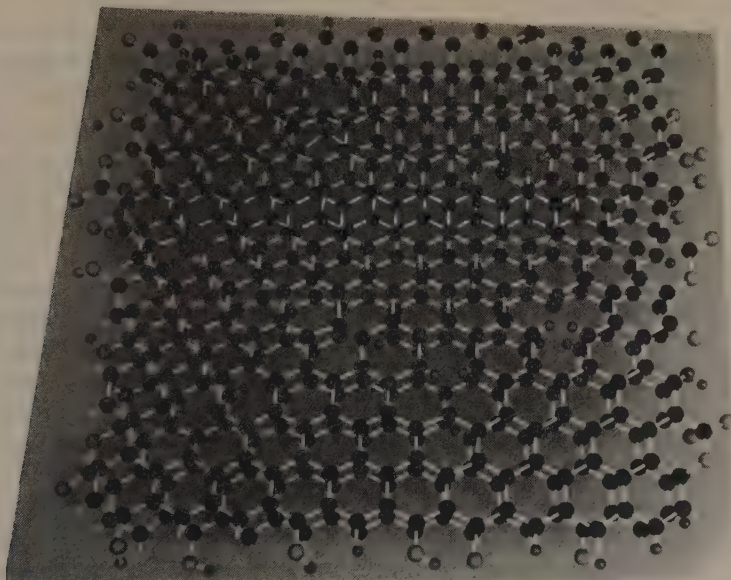


Abb. 12 Pyrolytischer Kohlenstoff

Die gewählte Darstellung ist ein Versuch, die bekannten experimentellen Befunde zu berücksichtigen. Die Lage der Fehlstellen ist willkürlich. Der angegebenen Kristallitgröße entsprechen 10×12 anellierte Benzolkkerne in 8 - 10 Schichten.

Entgegen der ursprünglichen Annahme - in Analogie zur GBH-Oberfläche - sind die ausgezeichneten thromboresistenten Eigenschaften des PYC nicht auf eine besondere Fähigkeit zur Adsorption von Heparin zurückzuführen. In vivo Versuche zeigten, daß Heparin überhaupt keinen Einfluß auf die Blutverträglichkeit des PYC hat; auch die kovalente Bindung des Heparin erbrachte keine Verbesserung, vielmehr hängt die Thromboresistenz von der Oberflächenqualität ab. Die wichtigsten Ergebnisse systematischer Untersuchungen sind:

- polierte Oberflächen verhalten sich thromboresistenter als raue
- HTI-PYC mit einer Kristallitgröße von 14 nm weist eine geringere Blutverträglichkeit auf als LTI-PYC mit einer Kristallitgröße von 2,5 nm.
- HTL-PYC mit einer bevorzugten Anhäufung der annelierten Ebenen an der Oberfläche ist blutverträglicher als LTI-PYC
- Vergrößerung der Kristallite des LTI-PYC durch Tempern führt zur Verminderung der Thromboresistenz
- Chemisorption von Sauerstoff ergibt an allen PYC-Modifikationen thrombogene Eigenschaften.

Pyrolytischer Kohlenstoff ist neben den gestrickten PETP-Prothesen bisher das einzige Material, das aus dem experimentellen Stadium in die klinische Anwendung geführt hat, und über einen Zeitraum von mehreren Jahren seine thromboresistenten Eigenschaften beibehält. Ein wesentlicher Nachteil besteht darin, daß pyrolytischer Kohlenstoff als Festkörper entsprechende Konstruktionen erfordert; flexible elastische Substitutionen wie der Gefäßersatz lassen sich nicht ausführen. Der Einsatz des PYC als Blutkontaktmaterial beschränkt sich dadurch auf Ventilkörper (Kugeln, Scheiben) und Käfigkonstruktionen künstlicher Herzklappenprothesen.

C. ELEKTROCHEMISCHE KRITERIEN FÜR THROMBORESISTENTE MATERIALIEN

Die begrenzten Erfolge sowohl biologisierter als auch mit Heparin präparierter Materialien weisen auf die prinzipielle Schwierigkeit hin, dauerhaft antithrombogene Kunststoffe auf der Grundlage einer enzymatischen Beeinflussung der Gerinnungsmechanismen zu synthetisieren. Darüber hinaus erfordern Enzyme als hochorganisierte, labile Molekülkomplexe bei der Oberflächenbehandlung aufwendige Reaktionsbedingungen und unterliegen im Organismus, wie gezeigt, einer besonders raschen Degradation. Das Ziel, unter Einbeziehung der elektrochemischen Eigenschaften des Gerinnungssystems zu einer völlig neuartigen blutverträglicher Elastomereigenschaften zu gelangen, läßt sich nach den bisherigen Ausführungen nur durch die Einbeziehung der künstlichen Oberfläche in das biologische Reaktionsgeschehen erreichen. Die Diskussion der elektrochemischen Vorgänge an der Phasengrenze Blut/Gefäßwand in den folgenden Abschnitten erlaubt die Auswahl der zur dynamischen Regeneration der künstlichen Oberflächeneigenschaften notwendigen Reaktionen.

1. Potentialverhältnisse an gerinnungsaktiven Substanzen

Sämtliche zellulären Elemente des Blutes weisen Potentiale und Ladungsverteilungen über die Zellwand auf, die zu einer negativen Polarisierung der Partikel bezogen auf den umgebenden Elektrolyten führen. Die Ursache liegt in fixierten elektrischen Ladungen und der daraus resultierenden Dipoldoppelschicht, die an dem polymeren Zellwandaufbau beteiligt sind. Es besteht eine Analogie zu dem Aufbau geladener kolloider Sole. Der Wert des Potentials hängt von einer Reihe weiterer Faktoren ab, die wichtigsten sind: Art und Konzentration der fixierten Ladungen sowie pH und Ionenstärke des umgebenden Elektrolyten. Darüber hinaus beeinflußt die spezifische Adsorption von Proteinen oder anderen Makromolekülen den aktuellen Wert und die örtliche Verteilung des Potentials.

Für die Auslösung der intravasalen Gerinnung bedeuten diese Tatsachen, daß in vivo elektrostatische Kräfte die spontane Aggregation

von Thrombozyten verhindern, und erst Änderungen des Ionenmilieus, der Zellmembran oder Adsorptionen an der Plättchenoberfläche die Aggregation ermöglichen. Dieser Zusammenhang erinnert an das Verhalten zweier gleichsinnig geladener Punktladungen, deren Wirkung aufeinander die Summe aus anziehenden und abstoßenden Kräften bestimmt. Im ungestörten Fall überwiegen die elektrostatischen abstoßenden die schwachen anziehenden van der Waalsschen Kräfte. Infolge von Adsorptionen, gleichbedeutend mit einer Abschirmung der elektrostatischen Kräfte, können die van der Waalsschen Kräfte überwiegen. Es resultiert eine Anziehung der identisch geladenen Teilchen, im speziellen Fall der Blutplättchen die Thrombozytenaggregation und damit die Auslösung der Gerinnung.

Die dargestellten elektrochemischen Verhältnisse zwischen den zellulären Elementen bestimmen auch deren Wechselwirkung mit der natürlichen Gefäßwand. Am Aufbau der Intima sind saure Mucopolysaccharide ($-\text{COO}^\ominus$, $-\text{SO}_3^\ominus$), Phospholipide ($-\text{PO}_4^{2\ominus}$, $-\text{P}_2\text{O}_3^{3\ominus}$, $-\text{P}_3\text{O}_{10}^{4\ominus}$) sowie membranbildende Glykolipide mit Neuraminsäure ($\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_4\text{COO}^\ominus$) als ladungsbestimmende Bestandteile beteiligt. Das in vivo gemessene Potential der Intima, bezogen auf die Adventitia, beträgt -5 bis -30 mV. Infolge von Verletzungen am Gefäß läßt sich eine Änderung des Potentials mit einem Anstieg bis zu +30 mV feststellen (20). Diese Ergebnisse zeigen, daß in vivo das initiiierende Ereignis der Thrombose die durch Verletzung bewirkte Potentialumkehr an der Gefäßintima ist; die geänderten elektrostatistischen Verhältnisse führen dann zu Thrombozytenaggregation.

Auch alle Komponenten des dritten an der Thrombenbildung beteiligten Systems, die bisher wenig untersuchten Gerinnungsenzyme, weisen negative Ladungen auf und wandern bei der Elektrophorese im physiologischen Milieu zur Kathode. Beim Fibrinogen ist die Sequenz und der Ort der abgespaltenen Fibrinopeptide durch enzymatische Untersuchungen erwiesen. Deshalb ist es erstaunlich, daß die folgende rein phänomenologische Erklärung für das elektrochemische Verhalten des Fibrinogens unbekannt blieb. A- und B-Peptide (vgl. Abb. 6) enthalten in ungewöhnlicher Häufung und Verteilung

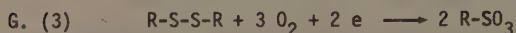
die Monoaminodicarbonsäuren, Asparaginsäure und Glutaminsäure. Beide Säuren liegen beim pH des Blutes mit der β - bzw. γ -Carboxylgruppe als Anionen vor. Die Peptidketten befinden sich im intakten Fibrinogen an der Oberfläche der kugelförmigen Erweiterungen des Moleküls. Damit läßt sich der für die elektrostatische Abstoßung der Thrombozyten angenommene Mechanismus auf die Polymerisation des Fibrinogens übertragen. Zelluläre Elemente und Eiweißbestandteile des Gerinnungssystems können demnach durch die sie umgebenden elektrostatischen Felder nicht in Wechselwirkung treten. Ein Beweis für diesen Mechanismus ist das Fibrinogen selbst; nachdem die ladungstragenden Gruppen abhydrolysiert sind, erfolgt die Polymerisation zum löslichen Fibrin spontan. Das Molekül stellt im Sinne klassischer chemischer Polyreaktionen ein polymerisationsfähiges Gebilde dar, dessen Monomeres durch einen Inhibitor (die Fibrinopeptide A und B) stabilisiert ist.

Elektrochemische Untersuchungen an Metall- und Halbleiterelektroden liefern für Fibrinogen in phosphatgepufferter physiologischer Kochsalzlösung Aussagen über den Aufbau des elektrolytseitigen Teils der Phasengrenze, Art und Ausrichtung der Ladungsträger beim Ablauf elektrochemischer Reaktionen an der Festkörperelektrode und bei Verwendung von Germanium als Halbleiterelektrode nicht nur über das Potential, sondern auch die

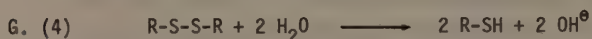
Aktivierungsenergie der betreffenden Umsetzung (21). Es zeigt sich hierbei, daß sich die Reaktionen des Fibrinogens als Oxidationen beschreiben lassen, obwohl die genauen Reaktionsprodukte wegen der mit dieser Methode nicht durchführbaren Identifizierung undefiniert bleiben. Folgende biologisch und elektrochemisch mögliche Reaktionsmechanismen stehen zu Diskussion:

1. Oxidative Decarboxylierung
2. Oxidative Desaminierung
3. Oxidation von Cystinbrücken
4. KOLBE-Methode
5. Bildung von Fibrinmonomeren.

Die beiden ersten Reaktionen wendet der Organismus zum Abbau von Aminosäuren an. Die Oxidation von Cystinbrücken kann auf zweierlei Weise erfolgen; Gleichung (3) stellt die eigentliche Oxidation



dar. Gleichung (4) ist bezüglich der Disulfidbrücke eine Reduktion,



aber die entstandenen Hydroxylionen können nach G. (5) im Gesamtprozeß zur beobachteten anodischen Teilstromdichte führen. Die



KOLBE-Methode führt nach G.(6) über einen Einelektronenübergang



zu additionsfähigen Radikalen, die mit sich selbst oder Bestandteilen des umgebenden Elektrolyten kombinieren können.

Die Bildung von Fibrinmonomeren und deren Polymerisation zum löslichen Fibrin ist durch den Transport der zur Abspaltung der Fibrinopeptide erforderlichen Energie zu den Spaltstellen über das aus Peptid- und Wasserstoffbrückenbindungen gebildete Leitfähigkeitsband im Proteinhalbleiter erklärbar. Der beobachtete anodische Strom läßt sich durch Nebenreaktionen mit den abgespaltenen Fibrinopeptiden oder anderen Elektrolytbestandteilen deuten. Sowohl das Abhydrolysieren der Peptide als auch die anschließende Polymerisation über Wasserstoffbrückenbindungen stellen keinen elektrochemischen Prozeß mit Ladungsträgere austauschreaktionen dar.

Auch ohne Kenntnis der genauen Reaktion des Fibrinogens zeigen die elektrooptischen Untersuchungen nach einigen Polarisationszyklen eine irreversible Veränderung des Fibrinogens bei positiven Potentialen. Nach folgenden Versuchen reicht aber eine Denaturierung des Fibrinogens bereits aus, um Thrombosen einzuleiten.

Thrombozytenaggregation und Eiweißgerinnung sind gekoppelte Er-

eignisse, und jedes für sich kann das andere aktivieren. Dies zeigt Versuch (1), in dem hochgereinigtes Fibrinogen (KABI) in physiologischer Konzentration (3 mg/ml) in Ringer-Lösung auf der Intima einer frisch entnommenen Vena femoralis einmal intakten und einmal bereits aggregierten Thrombozyten mit deutlich ausgebildeten Pseudopodien ausgesetzt wird. Im ersten Fall tritt bei der Beobachtung durch ein Lichtmikroskop bei 480-facher Vergrößerung weder an den Thrombozyten noch am Fibrinogen eine Veränderung auf. Im zweiten Fall, bei Inkubation mit morphologisch veränderten Thrombozyten, läßt sich innerhalb von 5 Minuten die Verbindung der Thrombozyten durch ein Fibringerinnsel beobachten. Die Rückwirkung von denaturiertem Fibrinogen auf Thrombozyten zeigt der zweite Teil von V. (1). Fibrinogenlösung, durch Behandlung mit Kaliumpermanganatlösung oxidativ koaguliert, führt bei Kontakt mit intakten Thrombozyten zur Pseudopodienbildung und Aggregation.

Die Versuchsergebnisse lassen sich mit Hilfe des elektrostatischen Modells deuten. Denaturierung eines Proteins bedeutet, daß es von einer hochgeordneten räumlichen Struktur in eine ungeordnete übergeht. Hierdurch können hydrophobe Molekülteile an die Oberfläche treten, während ladungstragende Gruppen nun im Molekülinneren verschwinden. Die dadurch aufgehobene elektrostatische Abstoßung zwischen Protein und Thrombozyt ermöglicht die Adsorption des denaturierten Proteins an die Thrombozytenoberfläche und führt über morphologische Veränderung zur viskösen Metamorphose. In gleicher Weise haben geschädigte Thrombozyten ihren ursprünglichen Membranaufbau verloren, wobei die freigesetzten Plättchengerinnungsfaktoren die Bildung des Fibrins auch ohne Thrombin katalysieren können. Für die zentrale Stellung des Fibrinogens und der Blutplättchen und deren gegenseitige Beeinflussung im Gerinnungsmechanismus läßt sich weiter anführen, daß menschliche Thrombozyten ca. 15 % des Gesamtfibrinogens enthalten; bei einigen niederen Tierarten ist das Fibrinogen ausschließlich in den Thrombozyten lokalisiert.

2. Folgerungen aus den bisherigen Entwicklungen

Die beschriebenen in vivo Versuche mit negativ polarisierten graphitbeschichteten PMMA-Röhrchen fügen sich in das Bild des diskutierten Modells der elektrostatischen Abstoßung der Gerinnungsenzyme. Die Untersuchungen an Metallröhrchen unterschiedlicher Normalpotentiale erlauben hingegen keine qualitativen Aussagen, da das Normalpotential keinen Schluß auf die Potentialeinstellung im Blut zuläßt, und darüber hinaus die meisten unedlen Metalle zur Ausbildung oxidischer Deckschichten undefinierter Oberflächenstruktur neigen. Die begrenzt antithrombogene Wirkung der polarisierten und negative Ladungen enthaltenden Polymere läßt sich auf eine Mißinterpretation der experimentellen Ergebnisse obiger Versuche zurückführen. Zwar ist die Wirkung der einzelnen Gerinnungskomponenten aufeinander elektrostatischer Natur, nicht aber die Erzeugung der Ladungsträger. Thrombozyten haben in vivo eine Lebensdauer von 7-10 Tagen; die Gefäßwand unterliegt ebenfalls einem ständigen Auf- und Abbau. Die benötigten Ladungsträger werden also nach genau festgelegten biologischen Bedingungen regeneriert. Diesen Bedingungen genügen die graphitbeschichteten PMMA-Röhrchen in der Weise, daß die angeschlossene Batterie bewegliche Ladungsträger in beliebiger Anzahl zur Verfügung stellt. An den betrachteten Polymeren sind die Ladungen durch die Synthese oder die Oberflächenbehandlung festgelegt und unveränderlich. Derartige Ladungen werden je nach Art und Verteilung über kürzere oder längere Zeiträume durch Adsorption von Blutbestandteilen abgeschirmt. Die Folge sind die beobachteten thrombotischen Reaktionen.

Für die Adsorption an Festkörperoberflächen sind die Seitenketten bestimmter Aminosäuren im Protein verantwortlich. Elektrokapillarmessungen ergeben als erforderliche Konzentration zur Erzeugung einer monomolekularen Schicht für Tryptophan $c_{\text{Trp}} = 2 \times 10^{-5} \text{ mol/cm}^2$ und für Histidin $c_{\text{His}} = 2 \times 10^{-2} \text{ mol/cm}^2$ (22). Das Verhalten der Aminosäuren spiegelt sich in den Proteinen wider, an deren Aufbau sie beteiligt sind. So adsorbiert z.B. Albumin mit nur einer Tryptophangruppe nicht an fremden Oberflächen, obwohl es gegenüber Fi-

Fibrinogen in 36-facher Konzentration vorkommt. Fibrinogen mit 82 Tryptophanresten pro Molekül adsorbiert spontan. Wenn diese Adsorption irreversibel oder mit einer konformativen Änderung des Proteins verbunden ist, treten in der Folge, gemäß V.1, thrombotische Reaktionen auf. Aus diesen Ergebnissen lassen sich für diese Arbeit nützliche unterschiedliche Adsorptionsmechanismen diskutieren.

Bei hohen Ladungsträgerkonzentrationen bestimmen die Carboxylgruppen der Fibrinopeptide das Adsorptionsverhalten. Bei geringen Ladungsträgerkonzentrationen oder bei starker Abschirmung kann die Ausbildung chemischer Bindungsbeziehungen vermutet werden. Initial beteiligen sich hierbei Wasserstoffbrückenbindungen des Tryptophans und des Histidins mit den hydrophilen Teilen der Kontaktfläche, die entsprechend den funktionellen Gruppen an der betrachteten Oberfläche in echte kovalente Bindungen übergehen können. An den sog. inerten Polymeren ist neben der hier besonders wirksamen elektrostatischen Wechselwirkung ein Adsorptionsmechanismus zu erwarten, der hydrophobe Bindungen einschließt. Es ist anzunehmen, daß die Anzahl der geknüpften Bindungen und damit die frei werdende Bindungsenergie in ähnlicher Weise zu Denaturierung beiträgt, wie die notwendige konformative Änderung des Proteins bedingt durch die räumliche Lage der Adsorptionsstellen auf der Festkörperoberfläche

Die berichteten Beobachtungen an Hydrogelen mit positiven und negativen Überschußladungen lassen sich durch dieses Adsorptionsmodell erklären. Ein hoher Überschuß an Kationen aber auch an Anionen bedingt durch starke Wechselwirkung mit den Fibrinopeptidcarboxylgruppen thrombogenes Verhalten, das im Falle des anionischen Überschusses ähnlich dem Durchbruchseffekt bei hohen Feldstärken deutbar ist. Auch die Thromboresistenz bei leicht positiver Überschußladung läßt sich durch Annahme weniger Verknüpfungsstellen durch die begrenzte Ladungsträgeranzahl verstehen, und steht nicht im Widerspruch zu den Elektrokapillarmessungen, da am Quecksilber keine Ladungsträgerbegrenzung vorliegt.

Auch die bessere Blutverträglichkeit der Hydrogele gegenüber Polymeren mit inkorporierten und fixierten Ladungen läßt sich so ver-

stehen. Beim Hydrogel ist der adsorbierte Elektrolyt Bestandteil des Polymeren; daraus resultiert eine gewisse Oberflächenleitfähigkeit, deren Träger die frei beweglichen Ionen des Elektrolyten sind. Hiermit tritt eine Verfeinerung des angegebenen Modells auf, in dem die elektrische Leitfähigkeit als Parameter zur Verringerung der Thrombogenität angesehen werden muß. Ihre Wirkung beruht auf einer Verschmierung der Ladungsmaxima durch Delokalisation.

Bereits aus diesen Annahmen lassen sich besonders günstige Verhältnisse bezüglich thromboresistenter Eigenschaften an graphitbeschichteten Polymeren und pyrolytischem Kohlenstoff erwarten. Beide Substanzen weisen hohe elektronische Leitfähigkeit durch das über die gesamte Partikelgröße durch Konjugation delokalisierte π -Elektronensystem (vgl. Abb. 12) auf. Darüber hinaus ergibt sich bei geeigneter Orientierung der Kristallite, mit den Sechsringebenen zu Blutphase, eine negative Raumladung im Bereich von 0,08 nm durch die überlappenden p_z -Orbitale. Es ist anzunehmen, daß die orientierte π -Elektronenwolke zu der Ausbildung der thromboresistenten Eigenschaften beiträgt. Damit können die besseren Eigenschaften des HTL-PYC verstanden werden.

Obwohl ähnliche elektronische Voraussetzungen an Graphit und PYC vorliegen, läßt sich nur an pyrolytischem Kohlenstoff permanente Thromboresistenz bestätigen, so daß weitere für die Blutverträglichkeit entscheidende Parameter am PYC Einfluß nehmen müssen. Folgende Merkmale unterscheiden die beiden Substanzen:

	Graphit	PYC
Korngröße	80 bis 100 nm	3 nm
Struktur	porös	dicht
Reinheit	Kunststoffbinder	reinst

Die experimentelle Prüfung dieser Parameter mittels der Bestimmung der Spontangerinnungszeit (SGZ) ergibt bezüglich der beiden ersten Kriterien nur unwesentliche Vorteile des PYC. Nach den obigen Ausführungen (s.S.6-9) drängt sich auf, daß der Kunststoffbinder

auf Cellulose- (DAG 154) oder Alkydharz-Basis (DAG 35) das unterschiedliche Verhalten von Graphit und PYC bestimmt. Tatsächlich ergibt sich zwischen der SGZ einer durch Ultraschallzerstäubung auf Glas erzeugten Graphitschicht ohne Kunststoffbinder und einer Glasbeschichtung mit DAG 154 eine deutliche Differenz; allerdings ist die SGZ für reinen Graphit nur von ähnlicher Länge wie für reine Polymere (s.S. 97). Damit bleibt zu vermuten, daß PYC über eine weitere Eigenschaft verfügt, die eine permanente Wechselwirkung mit dem Blut gestattet.

Im Jahre 1970 versuchten KOZAWA et al. (23) eine biogalvanische Brennstoffzelle mit katalytischer Sauerstoffreduktion als Kathodenreaktion und anderen Blutbestandteilen als anodischem Brennstoff als Energiequelle für ein künstliches Herz zu entwickeln. Dieses Verfahren hatte SCHALDACH (24) in Fortführung der Arbeiten von JAHNKE (25) bereits 1969 als energieliefernde Reaktion für den Betrieb von Herzschrittmachern untersucht. Bereits hierbei ließ sich die außerordentliche biologische Verträglichkeit der Phthalocyanineinkapselung - als Katalysator für die Sauerstoffreduktion - im Gewebe feststellen.

Obwohl KOZAWA bemerkte, daß PYC katalytische Eigenschaften besitzt, blieb eine Deutung hinsichtlich des Einflusses auf das Gerinnungssystem unerkannt, da sich die Untersuchungen auf 10%-ige Lösungen mit Natriumcitrat ungerinnbar gemachten Blutes beschränkten.

Weder die elektrostatische Abstoßung noch die Leitfähigkeit allein, sondern die elektrokatalytischen Fähigkeiten des PYC bilden die Grundlage für die besondere Eignung als Werkstoff im kardiovaskulären System. Die dieser Arbeit zugrunde gelegte Aufgabenstellung besteht darin, mittels der kathodischen Sauerstoffreduktion die gewünschten thromboresistenten Merkmale für flexible Implantatmaterialien zu erreichen. Hierzu ist die Synthese und Charakterisierung von Redoxkatalysatoren erforderlich, die der Substanzklasse der organischen Halbleiter angehören.

3. Redoxkatalysatoren

Als Redoxkatalysatoren für die kathodische Sauerstoffreduktion sind bisher folgende Systeme bekannt: monomere und polymere Metall-Phthalocyanine, monomere und polymere Metall-Dibenzotetraazaannulene, Metalltetraphenylporphyrine und Metallanthrachinocyanine, wobei die katalytisch aktivsten Metalle Kobalt und Eisen sind. Bis auf die Dibenzotetraazaannulene leiten sich diese Katalysatoren vom Porphin bzw. Phthalocyanin ab, so daß für die folgenden Untersuchungen einige Vertreter dieser drei Spezies einen ausreichenden Überblick geben können. Monomeres Eisenphthalocyanin (FePc) ist darüber hinaus dem Häm des Hämoglobins sehr ähnlich. Wie in Abb. 13 gezeigt, sind im FePc das konjugierte Elektronensystem des Porphinrings durch ankondensierte Benzolkkerne erweitert und die Methingruppen durch Stickstoff substituiert. Dagegen trägt das Häm Methyl-, Vinyl- und Propionsäurereste, die für die Bindung an die Eiweißkomponente Globin und die hydrophobe Abschirmung von Bedeutung sind.

Für die Untersuchung der elektrochemischen Auswirkungen auf die gerinnungsphysiologischen Eigenschaften werden die Kupfer-, Kobalt- und Eisenkomplexe des Häms, der monomeren und polymeren Phthalocyanine und des Dibenzotetraazaannulens synthetisiert. Die Auswahl der Metalle erfolgte nach folgenden Prinzipien: Eisen-Porphyrine sind neben ihrer O_2 -Transportfunktion im Hämoglobin die wichtigsten Katalysatoren der Atmungskette der Säugetiere; in niederen Tierarten finden sich auch Kobalt-Abkömmlinge. Darüber hinaus ist Kobalt das Zentralatom im porphinähnlichen Corrin, dem Ringsystem des Vitamin B_{12} , das maßgeblich an der Hämatopoese beteiligt ist. Kupfer als koordinativ vierwertiges Metall erlaubt den Einfluß des Zentralatoms im Verhältnis zum Ringsystem zu beurteilen. Im Anschluß an die folgende Diskussion der Darstellung sind die Ergebnisse elektrochemischer Messungen an den einzelnen Metallchelaten in einem besonderen Kapitel (C. 4.) zusammengefaßt.

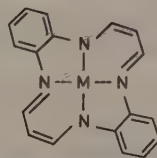
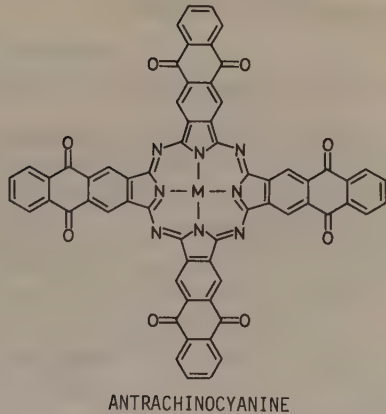
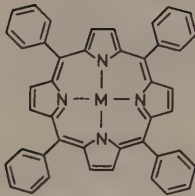
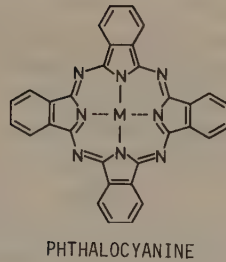
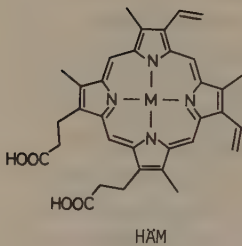


Abb. 13 Redoxkatalysatoren der elektrochemischen Sauerstoffreduktion
Das Häm des Hämoglobins und das Tetraphenylporphyrin gehören zu derselben Klasse. Zu beachten ist, daß die Phenylringe nicht in der Ebene des Makrocyclus liegen und demzufolge nicht zur π -Elektronendelokalisation beitragen. Dagegen ist im Antrachinocyanin, über das noch keine experimentellen Ergebnisse vorliegen, das Elektronensystem gegenüber dem Phthalocyanin erweitert. Dibenzotetraazaannulene nimmt eine Sonderstellung ein.

Hämin

Hämin entsteht nach Versuch (2) durch Eintragen von Blut in eine heiße Lösung natriumchloridgesättigten Eisessigs. Unter gleichzeitiger Oxidation des zweiwertigen Eisens im Hämoglobin zum dreiwertigen des Hämins trennt sich das Porphinsystem von der Eiweißkomponente. Hämin bildet braune Kristalle mit bläulichem bis violetter Oberflächenglanz und ist in verdünnten Alkalien unter Bildung des Hämatins (Substitution des Cl^- durch OH^-) löslich. Hämatin und Globin bilden in neutraler Lösung das braunrote Methämoglobin, das durch Reduktion mit Ameisensäure wieder in das Hämoglobin übergeht.

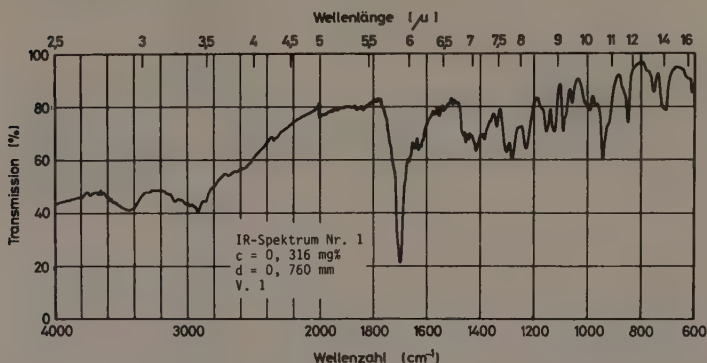


Abb. 14 Infrarotspektrum des Hämins

Im Bereich von 4000-2000 /cm schlechte Auflösung wegen Streulichts;
1700 /cm ν -C-C, 845 /cm δ out of plane der meso CH- und 750 /cm δ out of plane der β -Pyrrol CH-Gruppen.

Als Nachweisverfahren für Hämin sind Elementaranalyse und Infrarotspektroskopie (IR-Spektroskopie) ausreichend. Abb. 14 zeigt das IR-Spektrum des Hämins in KBr-Preßlingtechnik. Dieses und alle weiteren fortlaufend nummerierten Spektren wurden mit einem Zweistrahlphotometer mit optischem Nullabgleich von Typ BECKMAN IR 33 mit einer Registriergeschwindigkeit von 27 Minuten aufgenommen. Die Wellenzahlengenauigkeit beträgt von 4000-2000 $\text{cm}^{-1} \pm 15 \text{ cm}^{-1}$, von 2000-600 $\text{cm}^{-1} \pm 8 \text{ cm}^{-1}$; der Transmissionsfehler $\pm 2 \%$. In den Spektren ist die Preßlingdicke d (mm) und die

Konzentration c (mg %), die mg-Probenmaterial pro 100 mg KBr angegeben.

Der Bereich von $4000-2000\text{ cm}^{-1}$ zeigt Hämin durch das Streulichtverhalten als stark absorbierende Probe. Methyl-, Methylen- und Vinyl-CH-Schwingungen sind dadurch schlecht aufgelöst und zusätzlich von den Schwingungen der Propionsäurereste überlagert. Die beherrschende Bande des Spektrums entsteht durch die C-C-Gerüstschwingungen des Ringsystems bei 1700 cm^{-1} . Die Banden bei 845 und 750 cm^{-1} entsprechend den Wasserstoffbeugeschwingungen (out of plane) an den meso-CH-Gruppen und den β -Pyrrolgruppen.

Dibenzotetraazaannulene (TAA)

Frisch hergestellter Propargylaldehyd gibt mit der molaren Menge o-Phenylendiamin in Dimethylformamid (DMF) 5.14-Dihydro-dibenzo [b.i.] - [5.9.14.18] - tetraaza - [14] - annulen (26). Propargylaldehyd läßt sich aus dem Dibromacetal des Acroleins durch Bromwasserstoffabspaltung, durch Anlagerung von Formaldehyd an Acetylen oder aus Propargylalkohol durch Chromsäureoxidation erhalten. Das letzte Verfahren ist mit einer Ausbeute von 44 % (Versuch 3) besonders für das Labor geeignet.

Die zu untersuchenden Metallkomplexe entstehen durch Erhitzen der entsprechenden Metallacetate mit Dihydro-TAA in DMF (Versuch 5). Für Co-, Cu- und Fe-TAA gelingt die Reinigung durch Vakuumsublimation bei 10^{-2} Torr und 300°C . Die drei Metallchelate bilden dunkelbraune bis violette nadelige Kristalle aus, die sich im Bereich von $350 - 400^\circ\text{C}$ unter teilweiser Sublimation zersetzen. Stellvertretend für die anderen ist in Abbildung 15 das Massenspektrum (MS) des Co-TAA wiedergegeben und beweist durch seine Bandenarmut - neben dem Molpeak treten praktisch keine bevorzugten Fragmentierungen auf - die hohe Stabilität dieser Komplexe. In ihrer Temperaturbeständigkeit und ihrem Verhalten gegenüber Mineralsäuren ähneln die Me-TAA den Phthalocyaninen; wie diese

sind sie aus ihren Lösungen in konzentrierter Schwefelsäure durch Wasser wieder ausfällbar. Die IR-Spektren der drei TAA's sind untereinander wie zu erwarten sehr ähnlich und mit denen des Hä-

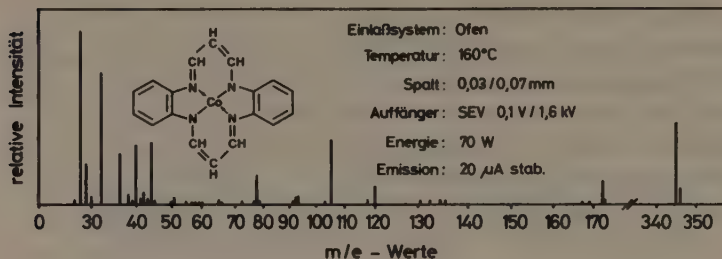


Abb. 15 Massenspektrum des Kobaltdibenzotetraazaannulens
 Das Spektrum ist charakteristisch für die hohe Stabilität der Metallchelate des Tetraazaannulens, neben dem Molpeak bei $m/e = 345$ treten keine bevorzugten Fragmentierungen auf.

min und der Pc nicht zu vergleichen. Als weiteres Nachweiskriterium sind im experimentellen Teil die Ergebnisse der Elementaranalysen angegeben.

Monomere Phthalocyanine

Monomere Phthalocyanine sind von fast jedem Element des Periodensystems hergestellt worden. Färbetechnisch hat jedoch nur CuPc und dessen Derivate Bedeutung erlangt, so daß für andere Metalle als Zentralatom nur unvollkommene und mit seltenen Ausgangsverbindungen arbeitende Darstellungsverfahren bekannt sind. Im Gegensatz zu den von MOSER und THOMAS (27) vorgeschlagenen Verfahren bewährt sich für Cu, Co und Fe die Reaktion von o-Dicyanobenzol (DCB) in siedendem Chinolin mit wasserfreien Metallsalzen (V. 6). Auch bei Verwendung der Chloride ließ sich keine Chlorierung der aromatischen Kerne beobachten, so daß der Einsatz der teuren Me-Acetylacetonate nicht erforderlich erscheint (V. 7). Der Zusatz von 1 - 2 % Ammoniummolybdat bzw. Zirkonylchlorid verbessert die Ausbeuten um 8 - 12 % (V. 8). Fe- und Co-Salze reagieren auch mit Phthalsäureanhydrid (PAA) und Harnstoff (HS) als Ringbildner sehr glatt, allerdings mit geringen Ausbeuten (V. 9). Auch die Wertig-

keit des eingesetzten Metallsalzes ist bedeutungslos, es entsteht immer das Me^{2+}Pc .

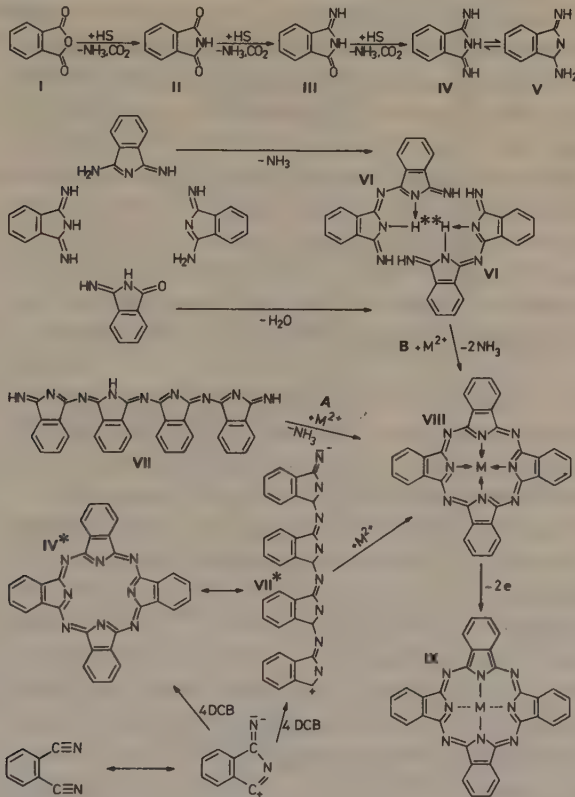


Abb. 16 Bildungsschema der Metallphthalocyanine
Durch Reaktion mit Harnstoff entstehen aus Phthalsäureanhydrid die Stickstoffderivate II. bis V. Durch Wasser bzw. Ammoniakabspaltung entsteht IV. In ähnlicher Weise ergibt Phthalsäuredinitril I* das Produkt IV*. Nicht geklärt ist, ob das System bis zum Tetrameren VII und VII* aufgebaut wird oder ob der Ringschluß über 2 Dimere IV und IV* erfolgt. Auch die Frage, wann die Reduktion zum Phthalocyanin IX eintritt, ist nicht untersucht.

In Abb. 16 ist ein Bildungsschema der Pc dargestellt, das beide Ausgangskomponenten berücksichtigt. Das PAA (I) reagiert mit Harnstoff oder dessen Polymerisations- bzw. Zersetzungsprodukten

zum Phthalimid (II) und weiter über das Monoiminophthalimid (III) zum Diiminophthalimid (IV), dieses ist mit dem 1-Amino-3-iminoisoindolenin (V) tautomer. Die Körper V und III bzw. V und VI können unter Wasser- bzw. Ammoniakabspaltung zu der Verbindung VI kondensieren. Die weitere Reaktion erfolgt durch konsequentes Anlagern von IV an VI bis zum Ringschluß (Variante A) oder durch Kondensation von VI mit VI (Variante B). Das stärker als das Proton H^+ koordinierende Metallion tritt wahrscheinlich schon beim Produkt VI in das Zentrum des auszubildenden makrocyclischen Ringsystems; am prinzipiellen Verlauf der Reaktion ändert sich dadurch nichts. In ähnlicher Weise läßt sich der Ringschluß des DCB über die Zwischenprodukte IV* und VII* deuten. Ob das fertige Ringsystem VIII zum eigentlichen Pc IX reduziert wird, oder diese Reduktion schon in einem früheren Reaktionsstadium erfolgt, ist nicht geklärt.

Monomere MePc lassen sich durch mehrfaches Umfällen aus konzentrierter Schwefelsäure reinigen. Fe- und CoPc können aus Chinolin und Pyridin umkristallisiert werden, wobei auch Anlagerungsverbindungen mit dem Lösungsmittel anfallen. Durch Tempern bei $200^\circ C$ im Vakuum (10^{-2} Torr) läßt sich das Lösungsmittel wieder entfernen. CuPc ist in allen bekannten Lösungsmitteln unlöslich, die Reinigung gelingt durch Extraktion. Fe-, Co- und Cu-Pc sublimieren in nennenswertem Maße bei $400^\circ C$ und 10^{-2} Torr. Alle drei Metallderivate bilden nadlige Kristalle; CuPc blau mit kupferfarbenem Glanz, CoPc tiefblau mit violetter Schimmer und FePc tiefgrün. Nur FePc behält seine Farbe in schwefelsaurer Lösung bei, die entsprechenden Lösungen von CoPc und CuPc sind braunviolett bzw. gelb.

Fe-, Co und Cu-Pc sind durch Elementaranalysen, MS-, UV- und insbesondere IR-Spektroskopie gut charakterisierbar. Die NMR-Spektroskopie scheidet wegen der geringen Löslichkeit der Komplexe bereits aus. In Abb. 17 sind die IR-Spektren der 3 Komplexe im interessanten Spektralbereich von $2000 - 600\text{ cm}^{-1}$ zusammengestellt. Die Spektren der monomeren Pc sind bekannt und gedeutet (28); demnach liegen in allen drei Fällen die α -Formen der Metallchelate vor.

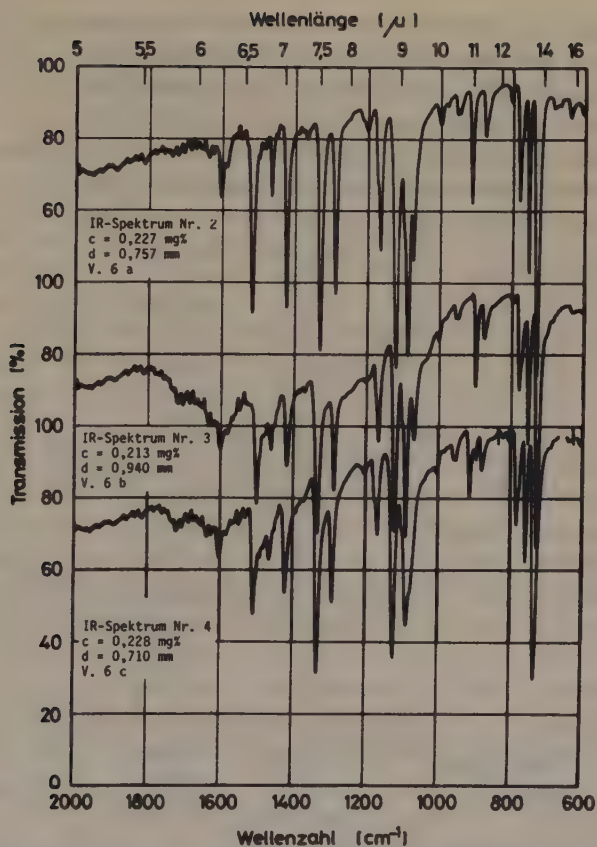


Abb. 17 Infrarotspektren des Kobalt- Kupfer- und Eisenphthalocyanins

Alle drei Komplexe liegen in der α -Form vor. Für Kupferphthalocyanin lassen sich folgende Zuordnungen angeben: $1611 \text{ /cm } \nu\text{-C-C}$, $1421 \text{ /cm } \nu\text{-C-C}$, $1288 \text{ /cm } \nu\text{-C-C}$, $1121 \text{ /cm } \beta\text{-C-H}$, $900 \text{ /cm } \nu\text{-Cu-N}$ und $730 \text{ /cm } \gamma\text{-C-H}$.

Polymere Phthalocyanine

Durch Ersatz der für die Ringbildung monofunktionellen Edukte DCB bzw. PAA/HS durch die bifunktionellen Tetracyanobenzol (TCB) bzw. Pyromellithsäuredianhydrid (PMADA)/HS entstehen polymere Phthalocyanine. In Abb. 18 ist hierzu ein octamerer Produkt mit Carboxyl-

funktion als Randgruppen dargestellt. Das in Abb. 16 diskutierte Bildungsschema der MePc behält auch für die Darstellung der Metallpolyphthalocyanine MePPc seine Gültigkeit. Die Struktur der MePPc ist bis heute weitgehend ungeklärt. Insbesondere herrscht unter den verschiedenen Autoren Uneinigkeit darüber, welche der verschiedenen Präparationsmethoden überhaupt zu polymeren Produkten führt und welche Struktur den polymeren Produkten zuzuordnen

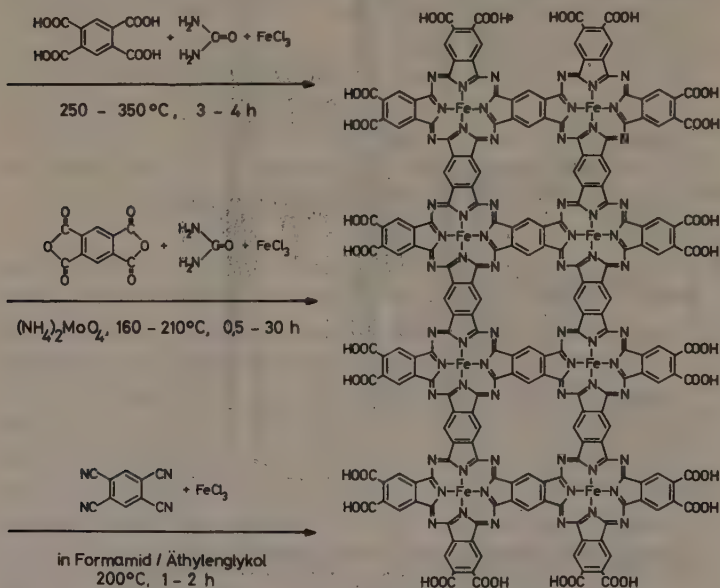


Abb. 18 Darstellung der Metallpolyphthalocyanine
Prinzipiell gilt der gleiche Reaktionsmechanismus, der auch zur Bildung der monomeren Produkte führt (vgl. Abb. 16). Drei Darstellungsverfahren, ausgehend von der Pyromellithsäure, deren Dianhydrid und deren Tetranitril, haben sich bewährt. Ungeklärt sind die Struktur (flächig, linear, vernetzt) und der Polymerisationsgrad.

ist (29,30).

Diese kontroversen Auffassungen über Synthese, Struktur und Eigenschaften polymerer Phthalocyanine erklären sich daraus, daß fast alle in der modernen organischen Chemie angewendeten Analyseverfahren wie NMR-, IR-, Massen-Spektroskopie, Röntgenstruktur-

analyse, Kryoskopie usw. versagen, da diese Substanzen bei amorpher Struktur, Unlöslichkeit und Unschmelzbarkeit ein hohes Molekulargewicht aufweisen. Es ist zwar nicht das Ziel dieser Arbeit, die bestehenden Strukturprobleme zu lösen, doch die Notwendigkeit reproduzierbare und weiterverarbeitbare MePPc darzustellen, liefert auch über deren Struktur einige Erkenntnisse.

Die Synthese des im Handel nicht erhältlichen TCB geht vom PMADA aus. Durch Auflösen in 25 %-iger Ammoniaklösung (V. 10) entsteht das Tetraammoniumsalz der Pyromellithsäure. Dieses geht beim Erhitzen (V. 11) auf 250° C in das Pyromellithsäurediimid (PMADI) über. Durch Digerieren in Ammoniaklösung (V. 12) entsteht das Pyromellithsäuretetraamid (PMATA), dessen Entwässerung zum Tetracyanobenzol mit einigen Schwierigkeiten verbunden ist. In der Literatur (31, 32) sind zwei Verfahren beschrieben, von denen das erste Phosgen als Dehydratisierungsmittel benutzt. Diese stark exotherme Reaktion ist nicht nur wegen des Phosgens gefährlich, sondern auch weil trotz sorgfältigster Arbeit mit "Gaseinleitungsrohr beim Ausscheiden von Feststoffen" Verstopfungen auftreten, so daß der Phosgendruck stark ansteigen kann. Nach Beseitigung der Verstopfung mit dem Glasstab tritt nun zu viel Phosgen in das Reaktionsgemisch und die Reaktion verläuft explosionsartig. Das zweite Verfahren läßt sich in der hier abgewandelten Modifikation in einem einzigen Reaktionsschritt durchführen. Das von LAWTON und McRITCHIE (32) angegebene Zwischenprodukt 2.4.5-Tricyanobenzamid ließ sich nicht isolieren. Es ist zu vermuten, daß es sich bei dem von den Autoren beschriebenen Produkt um nicht ganz wasserfreies TCB handelt. Reines TCB ist ein leichtes weißes Pulver, das in Nadeln oder Plättchen kristallisiert.

In Abb. 19 sind die IR-Spektren der Pyromellithsäure (PMA) und der wichtigsten Zwischenprodukte dargestellt. Diese Zusammenstellung dient nicht nur dem Nachweis der einzelnen Strukturen, sondern liefert gleichzeitig wichtige Anhaltspunkte für die zu erwartenden Randgruppen der MePPc. Folgende Banden lassen sich zuordnen: PMA; 3400 - 2400 cm^{-1} feste Carbonsäure in KBr, 1725 -

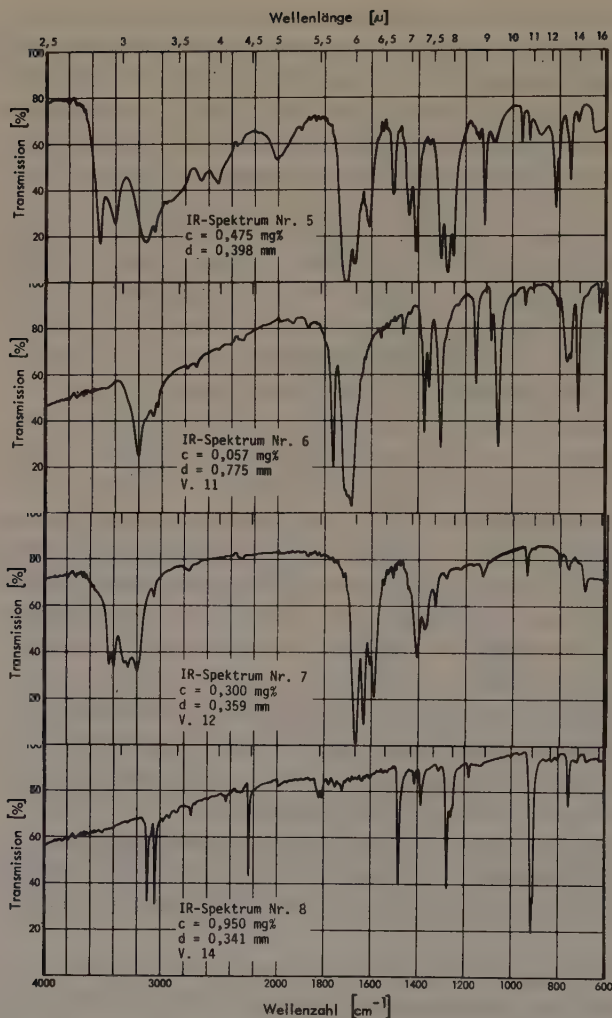


Abb. 19 Infrarotspektren der Zwischenprodukte bei der Synthese des 1.2.4.5-Tetracyanobenzols
Neben der Kontrolle des Synthesegangs liefern die Spektren Anhaltspunkte für die zu erwartenden Randgruppen der polymeren Phthalocyanine. Der Vergleich mit Abb. 20 weist auf die Imidstruktur hin.

1690 cm^{-1} $\nu\text{C}=\text{O}$ in aromatischen Carbonsäuren, 1500 cm^{-1} $\nu\text{C}-\text{C}$ des Benzolrings. PMADI; 3200 cm^{-1} $\nu\text{N}-\text{H}$, 3070, 3030 $\nu\text{C}-\text{H}$, 2780, 2700 cm^{-1} können Obertöne von 1380, 1350 cm^{-1} sein, 1770 cm^{-1} $\nu\text{C}=\text{O}$, 1750-1650 cm^{-1} Kombination δNH mit $\nu\text{C}=\text{O}$, 1400-1200 cm^{-1} Kombination δNH mit $\text{O}-\text{C}-\text{N}$. PMATA; 3440-3200 cm^{-1} freie und assoziierte $\nu\text{N}-\text{H}$, 1670 cm^{-1} $\nu\text{C}-\text{O}$, 1410 cm^{-1} $\nu\text{C}-\text{N}$, 945 cm^{-1} $\delta\text{C}-\text{H}$ out of plane. TCB; 3120 cm^{-1} $\nu\text{-sym C}-\text{H}$, 3050 cm^{-1} $\nu\text{-asym C}-\text{H}$, 2440 cm^{-1} $\nu\text{C}=\text{N}$, 1485 cm^{-1} $\nu\text{C}=\text{C}$ in Aromaten.

Die Darstellung der MePPc erfolgte nach unterschiedlichen Methoden und variablen Reaktionsbedingungen. Drei Reaktionstemperaturen 250, 300 und 350° C im Bombenrohr evakuiert und unter Stickstoff; Reaktionen in siedendem Nitrobenzol - $\text{O}-\text{NO}_2$ - (211°C), Chinolin - CHN - (237° C), 1.2.4-Trichlorbenzol - O Cl_3 - (213° C) und Gemischen aus Formamid/Äthylenglykol - FA/ED- (200° C) mit gepulverten Metallen, Metallsalzen sowie Metallacetylacetonaten -MeACAC- und TCB bzw. PMADA/HS als Ringbildner wurden in den Versuchen 15 - 67 untersucht. Durch Beimengung von DCB bzw. PAA in unterschiedlichen molaren Verhältnissen entstanden Produkte, die sich als Oligomere beschreiben lassen.

Diese Substanzen lassen sich stark eingeschränkt elementaranalytisch und IR-spektroskopisch nachweisen. Abb. 20 zeigt die IR-Spektren unter verschiedenen Versuchsbedingungen hergestellter Eisen-Phthalocyanine. Spektrum Nr. 9 stellt ein oligomeres Eisenphthalocyanin dar, das bei einem Verhältnis von PAA : PMADA = 6 : 1 entsteht. Obgleich die Auflösung wegen der Randgruppen und der Polymerisation nicht mehr so gut ist wie beim monomeren Produkt (vgl. IR-Spektrum 4) lassen sich die für FePc charakteristischen Banden erkennen. Bei 1770 cm^{-1} und 1700 cm^{-1} handelt es sich um die typischen Schwingungen des Pyromellithsäureimids, wie der Vergleich mit Spektrum Nr. 6 des reinen PMADI beweist. Die Relation der Konzentrationen von $c = 0,228 \text{ mg\%}$ für FePc und $c = 0,057 \text{ mg\%}$ für PMADI ergibt um den Faktor 4 bis 5 intensivere Schwingungen für das Imid. Dies erklärt einerseits das vollständige Verschwin-

den der Pc-Banden in den polymeren Produkten und erlaubt andererseits Schlüsse über den Bildungsmechanismus der Oligomeren. Die Imid-Banden können in Spektrum 9 nur auftreten, wenn das PMADA nicht ausreagiert hat. Hierfür bestehen zwei Möglichkeiten: a) das aus PMADA mit HS entstehende PMADI reagiert bevorzugt zu Pc. Dadurch können sich Produkte bilden, die 1 bis 4 freie PMADI-Reste im Makrozyklus enthalten; vorausgesetzt, daß die Bildung der Oligomeren mit kleinerer oder vergleichbarer Geschwindigkeit wie die Bildung des monomeren FePc aus PAA und HS abläuft. Das Bruttoreaktionsprodukt setzt sich dann aus vorwiegend FePc und wenig FeOPc's zusammen. b) die FePc-Bildung aus PAA und HS erfolgt im Vergleich zur Beteiligung des PMADA schnell; in diesem Fall entstehen neben monomeren FePc monomere Produkte, in denen ein Isoindol durch Isoindol-5,6-dicarbonsäureimid ersetzt ist. Ein exakter Nachweis der entstandenen Produkte ist mit den zur Verfügung stehenden Mitteln nicht möglich. Die Versuche mit anderen Molverhältnissen von PAA/PMADA deuten auf Variante a) als ablaufenden Mechanismus hin.

In Spektrum Nr. 10, einem FeOPc mit PAA:PMADA=1:6, verwischen nun die Moden des FePc mit denen des PMADI, daraus folgt ein durch breite Absorptionen gekennzeichnetes bandenarmes Spektrum. Wie erwartet führen die ν -C=O und die δ -NH des PMADI zu den stärksten Banden. Spektrum Nr. 11 zeigt ein Produkt, das durch die Reaktion von PMADA und HS mit Metallsalzen entsteht. Die Imidabsorption geht zurück, der Bereich von 1600 cm^{-1} bis 600 cm^{-1} ist fast nicht mehr auflösbar. Die Form dieses Spektrums weist darauf hin, daß ein weitgehend polymerisiertes Produkt vorliegt; eine Identifizierung ist an Hand dieses Spektrums jedoch nicht mehr zulässig. Spektrum Nr. 12 zeigt ein unter gleichen Reaktionsbedingungen mit TCB als Ausgangskomponente synthetisiertes polymeres Eisenphthalocyanin (FePPc). Im Vergleich mit Spektrum Nr. 10 erscheint jedoch eine oligomere Struktur wahrscheinlicher. Bemerkenswert ist, daß sich auch bei der Reaktion mit TCB Imidgruppierungen ausbilden, daneben bleiben unveränderte Nitrilgruppen am Molekül, die sich bei der Aufarbeitung verseifen lassen. Spektrum Nr. 13 stellt die vollständig entarteten Absorptionen eines FePPc dar, das nach Tem-

pern, Waschen mit verdünnter Salzsäure, Extrahieren mit einer Reihe organischer Lösungsmittel bei $T=500^{\circ}\text{C}$ und $p=10^{-2}$ Torr durch Sublimation gereinigt wurde. Wie erwähnt, ist die IR-Spektroskopie für derartige Substanzen kein adäquates Analyseverfahren mehr,

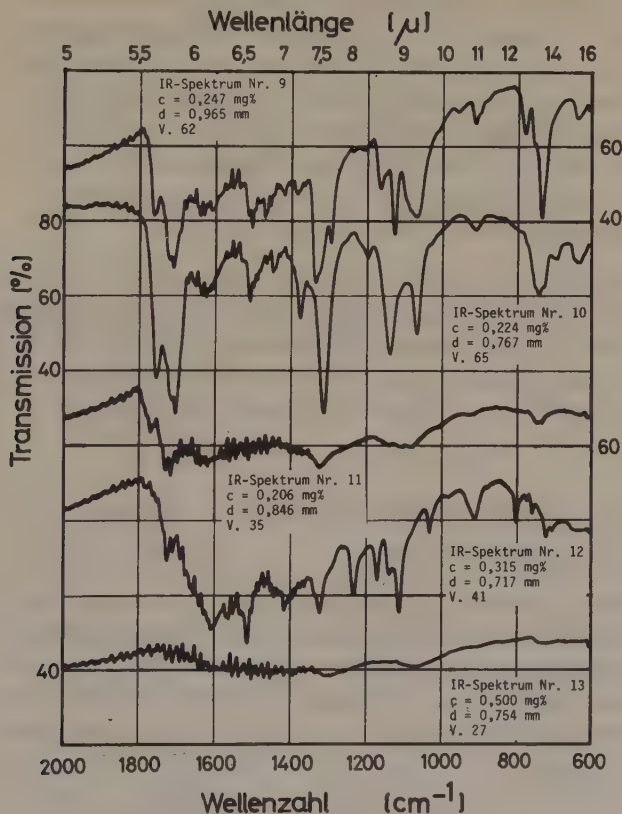


Abb. 20 Infrarotspektren verschiedener Eisenphthalocyanine

Die Reihe zeigt, wie mit zunehmenden Polymerisationsgrad die für den monomeren Komplex charakteristischen Schwingungen durch diejenigen des Pyromellithsäureimids an den Randgruppen verdrängt werden. Bei weiterer Steigerung des Polymerisationsgrades oder Modifikation der Randgruppen ergeben sich vollständig unaufgelöste Spektren, an denen eine Bandenzuordnung nicht mehr möglich ist.

nachdem selbst die intensiven Schwingungen der Imidgruppen am Molekülrand im Gemisch der benzolischen C-C-Schwingungen und den Moden des makrozyklischen Ringsystems untergehen.

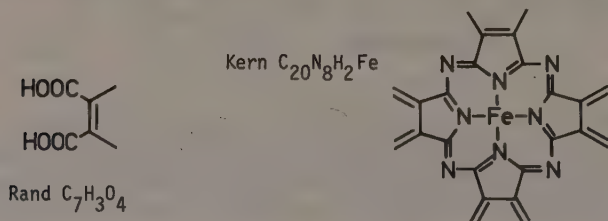
Ähnliche Ergebnisse liefert die Elementaranalyse an den polymeren Produkten. Insbesondere ist an dieser Stelle der von BAILAR (29) vertretenen Auffassung zu widersprechen, daß Analysenergebnisse Schlüsse auf die Struktur des Polymeren zulassen. Zum Verständnis sind in Tab. 5 die berechneten prozentualen Elementverhältnisse für FePPc verschiedener Struktur unter der Annahme idealen Randgruppenaufbaus für die o-Dicarbonsäure zusammengestellt. Die makrozyklischen Porphinkerne sind durch die Quadrate, die jeweiligen Randgruppen durch kurze Doppelstriche symbolisiert.

Die Berechnung erfolgt durch Zerlegung des Makrosystems in Kern und Randelemente. Diese aus Gründen der Vereinfachung vorgenommene Teilung führte zu der Erkenntnis, daß die gleichen Elementverhältnisse der ideal linear wie auch der zickzackförmig aufgebauten Struktur Id_L bereits bei Oligomeren auftreten, sobald sie der Zu-

$$G. (7) \quad Id_L = n (K + 2 R)$$

sammensetzung nach G. (7) genügen. In Tab. 5 ist dies für die Anordnung IV_2 , V_2 und VI_2 der Fall.

Diese einfache Verknüpfung reicht aus, um Zweifel an den von BAILAR angegebenen Ergebnissen aufkommen zu lassen. Auch die angeführte Titrierbarkeit der Produkte mit 0,01 n NaOH überzeugt nicht und ist kein Beweis für das Vorliegen von Carboxylgruppen, da sich das Imid ebenso titrieren läßt (s. V. 68). Eine hier durchgeführte



Permutation sämtlicher möglicher Randgruppen und deren stufenweiser Abbau mit Hilfe eines Rechnerprogramms erlaubt aus den gemessenen Analysendaten weder eine Zuordnung zu bestimmten Polymerisationsgraden noch zu einem definierten Randgruppenaufbau. Einerseits ergeben Variationen im Bereich der Oligomeren mit $10 < n < 20$ anellierten Kernen nur geringe Veränderungen der Elementarverhältnisse

Struktur	C	H	N	O	Fe
I 	51,41	1,73	12,85	27,39	5,98
II 	52,97	1,65	14,12	24,20	7,04
III 	53,31	1,61	14,92	22,72	7,44
IV ₁ 	53,48	1,59	15,35	23,77	7,65
IV ₂ 	54,08	1,51	16,82	19,24	8,38
V ₁ 	53,60	1,57	15,63	21,42	7,79
V ₂ 	54,08	1,51	16,82	19,21	8,38
VI ₁ 	53,67	1,56	15,81	21,07	7,88
VI ₂ 	54,08	1,51	16,82	19,21	8,38
VI ₃ 	54,54	1,45	17,96	17,09	8,95
Id _L = $\left(\text{four squares joined horizontally} \right)_n$	54,08	1,51	16,82	19,21	8,38
Id _F 	58,28	0,98	27,19	0	13,55

Tab. 5 Berechnete Elementarverhältnisse an oligomeren Eisenphthalocyaninen mit Carboxylrandstruktur
Die Kästen symbolisieren den makrocyclischen Kern, jeder Strich eine Carboxylgruppe. Bei bestimmten Strukturen ergeben sich auch an oligomeren Produkten die gleichen Elementarverhältnisse wie an einem ideal linear polymeren Gebilde.

nisse. Andererseits bestimmt die Verteilung und je nach dem Aufarbeitungsverfahren auch die Art der Randgruppen die Elementarverteilung stärker als eine Änderung von n um 5 Kerne, zumal die Elementaranalyse nur die Bestimmung des Gehaltes von C, H und N ermöglicht. Die entsprechenden Werte für die Metalle müssen durch Zersetzen einer relativ großen Substanzmenge mit $\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{SO}_4$, Verkochen des H_2O_2 , Abbrauchen der H_2SO_4 und anschließender Titration mit EDTA (Äthylendiamintetraessigsäure) bestimmt werden. Danach läßt sich der Prozentgehalt an Sauerstoff ermitteln, der stark vom Verhältnis der Randgruppen zu unsubstituierten Benzolkernen abhängt.

Obwohl die klassischen analytischen Methoden versagen, besteht in der Aufnahme der elektrischen Kenngrößen (Leitfähigkeit, Katalaseaktivität, Strom-Spannungs-Kennlinie) die Möglichkeit die Redoxkatalysatoren hinreichend zu charakterisieren. Wesentliches Ergebnis ist, daß die Reproduzierbarkeit der Produkte weniger von der Darstellung als von der Aufarbeitung abhängt. Das folgende Verfahren wurde daher standardisiert.

Das Rohprodukt wird gründlich mit verdünnter Salzsäure und anschließend mit Methanol gewaschen. Nach dem Trocknen erfolgt die erste Vakuumsublimation bei 200°C und 10^{-2} Torr, wobei niedermolekulare Bestandteile, insbesondere unumgesetztes PMADI absublimentieren. Für diese und die folgende Sublimation wurde eine spezielle Apparatur entwickelt, da MePc und MePPc bei Einwirkung des Vakuums zu explosionsartigen Zerstäuben neigen. Das Sublimationsrohr weist im unteren Teil eine Einschnürung auf und erlaubt so die Abdeckung des Sublimationsgutes mit einer Porzellanfilterplatte. Der dadurch bedingte schlechtere Wärmeübergang läßt sich durch Zusatz des entsprechenden Metalls (Fe, Co, Cu) ausgleichen. Zur Erleichterung der Reinigung sind die benötigten beiden Kühlfallen mit Schliffen versehen. Der ersten Sublimation folgt die Umfällung aus konzentrierter Schwefelsäure, bei der sich zunächst nicht sublimationsfähige Nebenprodukte, z.B. Polyimide aus PMADI und HS zersetzen. Nach der Extraktion mit Pyridin, Benzol und Äthanol

liefert die zweite Sublimation bei 10^{-3} Torr und 350-400 °C das Endprodukt für die elektrochemische Untersuchung.

Im Gegensatz zu der herrschenden Meinung ist das häufige Umfällen aus konzentrierter Schwefelsäure als einzige Reinigungsoperation vollständig unzureichend. PMADI verhält sich gegenüber konzentrierter Schwefelsäure und allen Extraktionsmitteln ebenso wie die Metallchelate, d.h. das Imid läßt sich nur durch Sublimation entfernen.

4. Elektrochemische Eigenschaften der Redoxkatalysatoren und des PYC

Die besonderen elektrochemischen Eigenschaften, die den pyrolytischen Kohlenstoff als blutverträgliches Material auszeichnen, müssen die aufgrund der folgenden Untersuchungen als Blutkontaktsubstanzen auszuwählenden Redoxkatalysatoren in möglichst übereinstimmender Weise erfüllen. Als Kriterium für eine Vorentscheidung unter den synthetisierten Metallchelaten bieten sich die Messung der elektrischen Leitfähigkeit bei konstantem Druck und konstanter Temperatur sowie die Bestimmung der zeitabhängigen Katalaseaktivität an. Die Aufnahme der Temperaturabhängigkeit der Dunkel leitfähigkeit, der Ruhepotentiale und der Strom-Spannungs-Kennlinien dienen der genaueren Charakterisierung der nach der Vorentscheidung verbliebenen organischen Halbleiter.

Leitfähigkeitsmessungen

Für die Leitfähigkeitsmessungen wurde eine Meßzelle aus einem Preßwerkzeug für KBr-Preßlinge der Firma BECKMAN, MKPD 13, umkonstruiert. In Abb. 21 ist die Zelle dargestellt. Die Fläche der Probe ist mit $F = 1,327 \text{ cm}^2$ vorgegeben; bei einer Einwaage von 300 mg Substanz ergeben sich Preßlingstärken von ca. 0,8 mm, deren Druckabhängigkeit mit der angeflanschten Meßuhr auf $\pm 0,01 \text{ mm}$ bestimmt werden kann. Zur Druckerzeugung diente eine hydraulische Presse der Fa. BECKMAN, 00-25. Der Druckmeßbereich läßt sich durch

Ersatz des ursprünglichen Manometers durch drei nebeneinandergeschaltete wahlweise zu und abschaltbare Feinmeßmanometer mit den Bereichen 0-6, 0-60 und 0-400 kpcm^{-2} erweitern und gestattet die Bestimmung des Druckes auf $\pm 1,5\%$ in jedem Bereich. Der Gleichstromwiderstand ergibt sich als Spannungsabfall über der Probe bei vorgegebenem Strom (KEITHLEY ELECTROMETER Modell 602). Der Druck betrug in allen Fällen 7600 kp/cm^2 , die Prüftemperatur 25°C .

Hämin fehlt im Vergleich zum Pc das erweiterte π -Elektronensystem, es weist die geringste gemessene Leitfähigkeit auf; außerdem liegt das Eisen-Zentralatom in der 3-wertigen Form vor und ergibt eine zusätzliche Behinderung der Leitfähigkeit (s.S. 61)

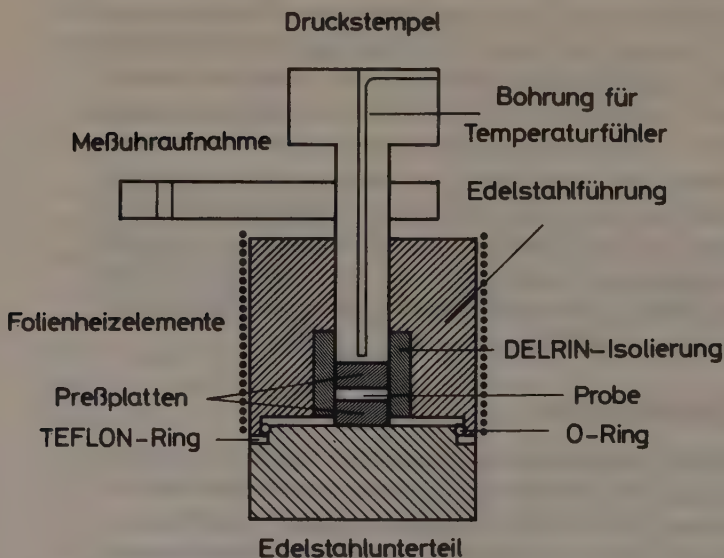


Abb. 21 Leitfähigkeitsmeßzelle für pulverige Substanzen

Die Zelle entstand aus einem abgeänderten KBr-Preßwerkzeug. Die Folienheizelemente und die DELRIN-Isolierung erlauben Messungen bis 100°C . Die maximale Belastung beträgt 10 t, die aktuelle Prüflingstärke läßt sich mit der anflanschbaren Meßuhr auf 0,01 mm bestimmen.

Der Einfluß der beiden Wertigkeitsstufen zeigt sich auch in der biologischen Funktion: beim Sauerstofftransport im Hämoglobin mit Fe^{2+} bleibt das Elektronensystem intakt, bei der Sauerstoffreduktion im Cytochrom c mit 3-wertigem Eisen kommt es zur Elektronenübertragung. Bei beiden Komplexen steigt die Leitfähigkeit im Verbund mit der Proteinkomponente, dies deutet auf eine Beteiligung der Eiweißkomponente am Leitfähigkeitsmechanismus hin. Die Darstellung weiterer Porphyrine, insbesondere solcher mit anderen Zentralatomen, erschien nicht sinnvoll, da bei den monomeren Komplexen die Eisen enthaltenden immer über die höchste Leitfähigkeit verfügen.

In den TAA ist das π -Elektronensystem bereits um zwei Benzolkerne erweitert. Diese Vergrößerung reicht aus, um auch am CoTAA Leitfähigkeit zu erzeugen. In den Pc vergrößert sich das konjugierte System um zwei weitere Benzolringe; die Abhängigkeit der Leitfähigkeit vom Zentralatom ergibt die Reihenfolge $\text{Cu} < \text{Co} < \text{Fe}$. Beim Übergang zu den Oligomeren nimmt die Anzahl der an der Delokalisation beteiligten π -Elektronen um den Faktor 2-4 zu, entsprechend verkleinert sich der elektrische Widerstand.

In den polymeren Metallchelaten kann die Leitfähigkeit in Abhängigkeit von der Reinigung sehr hohe Werte annehmen. Der leitfähigkeitserhöhende Einfluß der Metallatome kehrt sich in den polymeren Produkten in Relation zu den monomeren um.

Diese Beobachtungen lassen sich wie folgt deuten: in den monomeren Systemen beteiligen sich die π -Elektronen des makrozyklischen Ringsystems und die Metallzentralatome in ähnlichem Maße an der Leitfähigkeit; d. h. die Leitfähigkeit hängt von der Höhe des Überlappungsintegrals zwischen dem π -System im Ring und den d-Orbitalen des Metalls ab. Erwartungsgemäß ergibt sich daher bei den monomeren Pc ein vom Ionenradius abhängiges Leitfähigkeitsverhalten mit $r_{\text{Cu}^{2+}} = 62 \text{ pm} < r_{\text{Co}^{2+}} = 65 \text{ pm} < r_{\text{Fe}^{2+}} = 77 \text{ pm}$. Diese Deutung bestätigt auch der hohe Widerstand des Hämins, denn der Ionenradius von Fe^{3+} beträgt nur 64 pm.

Die schlechtere Leitfähigkeit der OPc gegenüber den PPc erklärt sich aus der Störung der π -Elektronendelokalisation durch den -I-Effekt der Randgruppen. Einen Hinweis für diese Vorstellung liefert das Leitfähigkeitsverhalten von Graphit und oxidiertem Graphit (V. 69). Durch Oxidation entstehen an den Rändern der Graphitkristallite Carbonyl-, Carboxyl- und Hydroxylgruppen, die ebenfalls die Delokalisation im Gitter stören und entsprechend die Leitfähigkeit verschlechtern.

Metall Chelat	Co			Cu			Fe		
	V.Nr.	R k Ω	$\Delta\epsilon$	V.Nr.	R k Ω	$\Delta\epsilon$	V.Nr.	R k Ω	$\Delta\epsilon$
Hämin	-	-	-	-	-	-	2	2×10^{10}	1,3
TAA	5a	$4,5 \times 10^9$	0,01	5b		0	5c	4×10^8	0,02
Pc	7a	$1,5 \times 10^6$	0	7b	$5,5 \times 10^7$	0	7c	$5,2 \times 10^5$	1,8
OPc	63	7500	0	64	8000	0	62	4000	0,03
OPc	66	2200	0	67	2500	0	65	1500	0,03
OPc	54	205	0,01	55	180	0	25	240	0,04
PPc	45	12	0,11	50	11	0	41	17	0,24
PPc	56	1,2	0,3	57	0,5	0,02	35	3,5	0,6
PPc	60	0,83	0,4	61	0,42	0,02	27	3	0,6
PPc	58	0,52	0,5	59	0,4	0,02	19	2,1	0,7
PPc	60*	0,17	0	61*	0,12	0	27*	0,2	0
Graphit			0,15 Ω	25° C, 10 to			$\Delta\epsilon = 0$		
Graphit oxidiert (V.69)			8000 Ω	25° C, 10 to			$\Delta\epsilon = 0$		
LTI-PYROLITE			2,1 Ω	25° C, drucklos			$\Delta\epsilon = 0,03$		

Tab. 6 Widerstände und Katalaseaktivität verschiedener Redoxkatalysatoren
Die Widerstände beziehen sich auf 300 mg Proben bei einer Belastung von 10 to bei 25° C. Als Katalaseaktivität ist die Änderung der Extinktion bei $\lambda = 405$ nm, während 5-minütigem Umpumpens einer mit 100 μ l Titanyl-sulfat versetzten Lösung von 5 ml 0,01 m Wasserstoffperoxid über 100 mg Redoxkatalysator auf einer Glasfritte angegeben.

In den polymeren Produkten erfolgt die Leitung ausschließlich über die π -Elektronen. Eine Beteiligung der Metall-d-Orbitale schränkt nun die Delokalisation der π -Elektronen ein. Das kleine Cu^{2+} -Ion behindert die Konjugation des Ringsystems nur wenig, entsprechend nimmt die Leitfähigkeit der CuPPc mit zunehmendem Polymerisationsgrad zu. CuPPc gehört zu den ekakonjugierten organischen Halbleitern. Dieses Ergebnis liefert die Bestimmung der Aktivierungsener-

gie ΔE der Dunkelleitfähigkeit nach G. 8 aus der Temperaturabhän-

$$\text{G. 8} \quad \sigma = \sigma_0 \exp(-\Delta E/kT)$$

(σ =Meßwert, σ_0 =Leitfähigkeit bei $T=0$, ΔE =Aktivierungsenergie der Dunkelleitfähigkeit, k =Boltzmann-Konst., T =absolute Temperatur)

gigkeit der Leitfähigkeit. Beim CuPPc ist ΔE vom Polymerisationsgrad abhängig, sie konvergiert gegen null, wenn sich der Polymerisationsgrad dem Wert 1 nähert. Co- und Fe-PPc gehören zu den rubikonjugierten Polymeren. Bei diesem Typ ist die Delokalisation auf bestimmte Bereiche begrenzt. Beim Polymerisationsgrad $P=1$ erreicht die Aktivierungsenergie einen bestimmten Grenzwert ($\Delta E_{\text{FePPc}} = 0,8 \text{ eV}$). LTI-PYC läßt sich aufgrund der hohen Störstellenkonzentration in die Halbleitermaterialien einreihen, die geringen Kristallitabmessungen von 2,5 nm erlauben die Zuordnung zum rubikonjugierten Typ. Die Leitfähigkeitsmessung am PYC gelingt nach Kontaktieren der Kreisflächen mit Cd-Blech drucklos an einem scheibenförmigen Prüfkörper des Durchmessers $d = 24,5 \text{ mm}$ und Höhe $h = 1,5 \text{ mm}$. Wegen der hohen Leitfähigkeit an Graphit, oxidiertem Graphit und PYC erfolgt die Messung mit einer Leitfähigkeitsmeßbrücke METRAPONT RLC II.

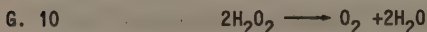
Katalaseaktivität

Ein wesentliches Merkmal effektiver Katalysatoren der Sauerstoffreduktion ist die Katalaseaktivität genannte Fähigkeit zur Zersetzung von Wasserstoffperoxid. Die Reduktion des Sauerstoffs verläuft über zwei Teilreaktionen. Im Primärschritt G. 9 entsteht aus



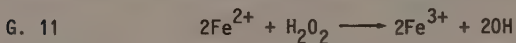
O_2 unter Elektronenaufnahme das Sauerstoffradikalanion. Dieser Schritt ist im Alkalischen und Neutralen reversibel, im Säuren durch rasche Protonierung zum Hydroperoxidradikal ($\text{HOO}\cdot$) jedoch irreversibel. Die weitere Reaktion zum H_2O_2 erfolgt ebenfalls noch schnell. Die Reduktion des H_2O_2 unterliegt aber wegen der

damit verbundenen Spaltung einer O-O-Bindung einer starken Hemmung. Daher verfügt der Organismus über ein Enzym, die Katalase, die die Disproportionierung des Hydroperoxids gemäß G. 10 katalysiert.



Die Bestimmung der Katalaseaktivität der synthetisierten Redoxkatalysatoren erfolgt in einer Apparatur, die bestehend aus einer mit Zu- und Abflußanschluß versehenen Glasküvette, einer Schlauchpumpe und einer in einer Schliffverbindung befindlichen Glasfritte der Porosität D3, das Umpumpen des Reaktionsgemisches in einem geschlossenen Kreislauf gestattet. Je 100 mg der gemahlenen und gesiebten Metallchelate werden sorgfältig auf der Glasfritte verteilt und mit 5 ml 0,01 m H_2O_2 und 100 μl frisch hergestellter Titanylsulfatlösung versetzt. Anschließend wurde die Extinktionsänderung $\Delta\epsilon$ bei 405 nm unter ständigem Umpumpen für eine Zeit von 5 Minuten mit einem LEITZ-UNICAM Spektralphotometer registriert.

Die Ergebnisse sind in Tab. 6 zusammengefaßt. Der Diskussion der Leitfähigkeitsmessungen folgend weist Hämin eine hohe katalytische Effizienz auf. Die noch größere Aktivität des FePc läßt sich durch Oxidation des Zentralatoms in den 3-wertigen Zustand nach G. 11



deuten. Beim Übergang zu den FeOPc erfolgt ein Abfall der katalytischen Aktivität um fast zwei Größenordnungen. Auch diese Eigenschaft muß mit der Randgruppenstruktur verknüpft sein; denn bei Abspaltung der Randgruppen durch Decarboxylierung steigen sowohl die Leitfähigkeit als auch die Katalaseaktivität an. Die Aktivität der Co-Komplexe ist kleiner, aber derjenigen der entsprechenden Fe-Chelate vergleichbar; die Cu-Verbindungen zeigen nur in den leitfähigsten Produkten geringe katalytische Fähigkeiten.

Die PpC V. Nr. 27*, 60*, 61* disproportionieren trotz guter Leitfähigkeit Wasserstoffperoxid nicht. Das Erhitzen auf mittlere Rotglut

zerstört das Phthalocyaningerüst weitgehend; so geglühte (s. S. 115) Produkte sind besser als Pyropolymere zu bezeichnen. Hierfür spricht auch, daß nach der Temperaturbehandlung der typische Phthalocyaninglanz verschwindet und einem grauen stumpfen Aussehen weicht. Diese PPc lösen sich nicht mehr in konz. H_2SO_4 und zeigen keinerlei elektrokatalytische Aktivität. In Übereinstimmung mit der elektrokatalytischen Aktivität zur Sauerstoffreduktion verfügt PYC über eine den FeOPc vergleichbare Fähigkeit zur H_2O_2 -Zersetzung. In welcher Weise die Leitfähigkeit bzw. die Katalaseaktivität die kathodische Sauerstoffreduktion beeinflussen, läßt sich mit Hilfe der Strom-Spannungs-Kennlinien an einigen Komplexen demonstrieren.

Strom-Spannungs-Kennlinien

Zur Untersuchung der elektrokatalytischen Fähigkeit stellt die Aufnahme der Strom-Spannungs-Kennlinie ein kritisches Verfahren dar; zur Charakterisierung der unterschiedlichen Metallchelate eignet sich diese Methode weniger, da sich wegen der Widerstandspolarisation nicht die Metallkomplexe allein, sondern nur ihre 5-10 %-igen Ausfällungen (aus konz. H_2SO_4) auf bestimmten Rußsorten untersuchen lassen. Das unterschiedliche Trägermaterial beeinflusst das elektrochemische Verhalten der Redoxkatalysatoren; daher findet für die Messungen analog zu (23) ausschließlich eine Elektrode aus PYC als Träger Verwendung. Die zu untersuchenden Pigmente scheiden sich direkt auf der Elektrodenoberfläche aus ihren Lösungen in konzentrierter Schwefelsäure nach Zusatz von Eiswasser ab. Die Messung erfolgt nach der potentiostatischen Dreiecksspannungsmethode in physiologischer Kochsalzlösung nach O_2 - bzw. N_2 -Sättigung im ruhenden Elektrolyten gegen eine gesättigte Kalomel-elektrode mit einer Polarisationsgeschwindigkeit von 5 mV/s im Bereich von -1,6 bis +0,2 V.

Der Vergleich zwischen stickstoff- und sauerstoffgesättigter Lösung in Abb. 22 an PYC deutet durch Strommaxima bei $V_E = 0,6$ V und $V_E =$

-1,3 V die Fähigkeit des PYC zur katalytischen Sauerstoffreduktion an. Das Auftreten von zwei Maxima läßt auf einen 2-Stufenmechanismus gemäß G. 9 und G. 10 schließen. Der Zusatz von Hämin schiebt

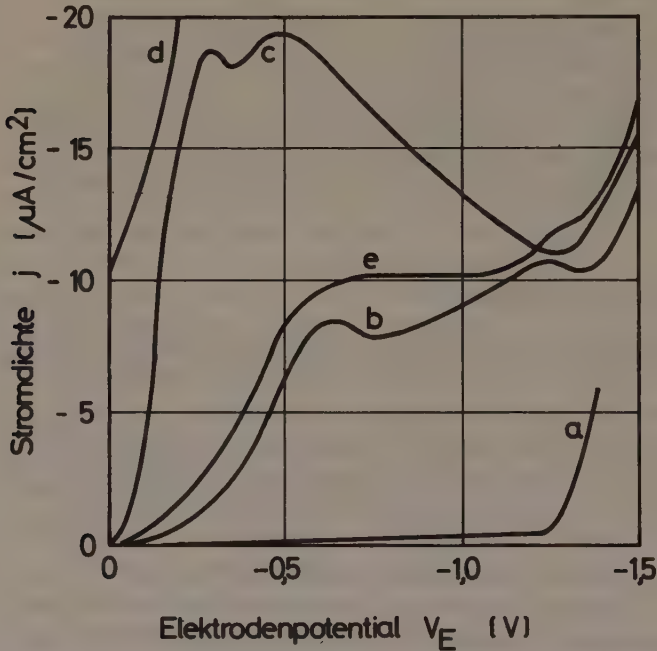


Abb. 22 Strom-Spannungs-Kennlinien an pyrolytischem Kohlenstoff und verschiedenen Redoxkatalysatoren
 Elektrolyt: phosphatgepufferte 0,15 m NaCl-Lösung
 Polarisationgeschwindigkeit 5 mV/s
 Temperatur: 23° C
 Elektrodenfläche: 0,38 qcm
 Bezugselektrode: ges. Kalomel

- a) PYC stickstoffgesättigt
- b) PYC sauerstoffgesättigt
- c) PYC und Hämin sauerstoffgesättigt
- d) PYC und FePc sauerstoffgesättigt
- e) PYC und FeOPc sauerstoffgesättigt

durch die Katalasewirkung beide Maxima näher aneinander. Aus der Verschiebung der Maxima zu positiveren Potentialen folgt, daß das

an der Elektrode sehr fest adsorbierte Hämin teilweise zum Häm reduziert nun auch den ersten Schritt der Sauerstoffreduktion nach G. 9 stärker katalysiert. An einer FePc-beschichteten Elektrode verschwimmen durch die größere Katalasereaktivität die beiden Maxima, und durch die höhere Leitfähigkeit setzt der Strom bei noch positiveren Potentialen ein. Hieraus läßt sich ein 4-Elektronenmechanismus nach G. 5 (s. S. 36) formulieren.

Ein FeOPc (V. 25) zeigt große Ähnlichkeit zum elektrochemischen Verhalten des PYC. Die kaum meßbare Wasserstoffperoxidzerersetzung bewirkt nur eine geringe Verschiebung der Ausgangskurve des PYC, lediglich das breitere Plateau deutet einen diffusionskontrollierten Strom an, so daß sich die Katalyse des FeOPc darauf beschränkt, dem System FeOPc/PYC bei bewegtem Elektrolyten einen höheren Strom zu entnehmen.

Der Stromanstieg bei positiven Potentialen durch Katalyse der Sauerstoffreduktion steht zunächst im Widerspruch zu den geforderten negativen Ladungen für thromboresistente Materialien. Die durchgeführten Messungen unter Reaktionsumsatz ermöglichen aber keinen Schluß auf den stromlosen Zustand bei der Implantation in vivo. Die Ladungsverteilung bestimmt das Ruhepotential. Für einen wässrigen Elektrolyten ergibt sich die thermodynamisch maximal mögliche Ruhespannung der Normalsauerstoffelektrode für physiologische Bedingungen und den halben Formelumsatz der Reaktion G. 5 nach G. 11

$$G. 11 \quad E_0 = E_0^\sigma + \frac{RT}{2F} \ln \frac{p_{O_2}}{a_{OH^-}^2}$$

($E_0^\sigma = 1,227$ V Normalpotential, $R = 83143$ Jgrd $^{-1}$ mol $^{-1}$ Gaskonstante, $T = 310$ °K entsprechend 37° C, $F = 96479$ AsecVal $^{-1}$ Faraday Konstante, $p_{O_2} = 0,05$ atm entsprechend dem Sauerstoffpartialdruck im venösen System, $a_{OH^-} = 10^{-6,65}$ mol l $^{-1}$ für den pH des Blutes)

zu 0,79 V. Abweichungen von diesem theoretischen Wert haben ihre Ursache in der Elektrodenkinetik. Einen Hinweis auf die Größe der dadurch bedingten Überspannung an der PYC-Elektrode ergibt sich aus

der Differenz zwischen E_0 und E_R , der beobachteten Ruhespannung, zu 0,55 V. Im Kontakt mit Blut gestaltet sich die Elektrodenkinetik durch die Beteiligung mehrerer Elektrodenreaktionen an der Potentialeinstellung komplizierter. Ein Mischpotential bildet sich aus. Hinweise liefert die Messung des Mischpotentials, das sich am PYC und am FeOPc (V. 25) in Kontakt mit frischem Citratblut einstellt. Die Potentialbestimmung erfolgte mit einem KEITHLEY ELECTROMETER 602 gegen eine gesättigte Kalomelelektrode. Der Kontakt zum Blutstropfen wurde mit Hilfe einer KCl-Brücke hergestellt. Um den Einfluß des PYC auf das FeOPc auszuschalten, befand sich das Metallchelate kovalent gebunden auf einem Polyurethanfilm (V. Nr. 77). Die elektrische Verbindung zum Elektrometer ließ sich im Falle des gut leitenden PYC direkt, im Falle des isolierten FeOPc/PUR über einen mit Leitsilber auf EP-Basis auf der FeOPc-Schicht außerhalb des Blutstropfens aufgeklebten Draht herstellen. Die direkte Potentialbestimmung am Metallkomplex ist hier zulässig, da bei der nahezu stromlosen (Eingangswiderstand des Instruments $10^{12} \Omega$) Messung die Widerstandspolarisation gegen Null geht. Als Meßwerte ergeben sich für PYC +0,03 V und für FeOPc -0,005 V. Das niedrigere Ruhepotential für den Metallkomplex konnte nach den Ergebnissen der Leitfähigkeitsmessungen und der Katalaseaktivität erwartet werden.

Auswahl geeigneter Redoxkatalysatoren für in vitro und in vivo Versuche

Die vorstehenden Untersuchungen erlauben eine Auswahl von Redoxkatalysatoren für in vitro und in vivo Versuche, der folgende Kriterien zugrunde liegen. Alle Komplexe, die den zweiten Schritt der Sauerstoffreduktion, die Zersetzung des H_2O_2 gut katalysieren, können wegen der damit verbundenen Potentialverschiebung in den positiven Bereich ausgeschlossen werden. Aus dem Vergleich mit PYC lassen sich günstige Verhältnisse bezüglich der Thromboresistenz an Metallchelaten hoher Leitfähigkeit und mäßiger katalytischer Aktivität erwarten. Damit verbleiben die mit OPc gekennzeichneten Komplexe der Versuche Nr. 25, 54 und 55 sowie die PPc Nr. 45 und 50.

Für die in vivo Untersuchungen müssen die Metallchelate über ihre Randgruppen mit der Kunststoffmatrix verknüpft werden. Für diesen Zweck erweist sich die geringe mit Komplexbildung verbundene Löslichkeit der Co- und Fe-Derivate in einigen organischen Lösungsmitteln als nützlich. Alle Cu-Verbindungen, die durch das koordinativ 4-wertige Kupfer nicht zur Komplexbildung befähigt und deswegen in allen organischen Lösungsmitteln bei geeigneten Reaktionstemperaturen vollständig unlöslich sind, müssen ebenso wie die unlöslichen PPc für in vivo Versuche ausscheiden. Für CoTAA sind trotz der hier konstatierten schlechten Leitfähigkeit und der kaum meßbaren Katalaseaktivität ausgezeichnete elektrokatalytische Fähigkeiten berichtet worden (26); die Prüfung dieses Komplexes bezüglich der Gerinnungsverzögerung erfolgt daher in vitro.

D. PFROPFREAKTIONEN AUF POLYMERMATRIZEN

Wie die Erfahrungen über die verschiedenen Bindungsmöglichkeiten des Heparins auf Polymeroberflächen beweisen, verlangen dauerhaft thromboresistente Kunststoffe die kovalente Bindung der die Antithrombogenität bedingenden Substanz. Um dieses Ziel zu erreichen, sind nicht nur von der Seite der aufzufropfenden Substanz, sondern auch von seiten des polymeren Trägers, der Polymermatrix, bestimmte reaktive Voraussetzungen erforderlich. Darüber hinaus besteht die Notwendigkeit, ein Verknüpfungsreagenz zu finden, das sowohl mit dem Katalysator als auch dem Polymeren unter den geschilderten Kriterien für die Reaktionsbedingungen (s. S. 8-10) in eindeutiger und reproduzierbarer Weise reagiert. Im folgenden wird zunächst die Auswahl von synthetisierten, gereinigten und im Handel erhältlichen Kunststoffen aufgrund von in vitro Koagulationszeitbestimmungen beschrieben. Die zur Verfügung stehenden Redoxkatalysatoren lassen sich danach in Form ihrer Dispersionen im Polymeren auf ihre gerinnungshemmende Wirkung prüfen und so spezifischer charakterisieren.

1. Auswahl geeigneter Kunststoffe

Als Kriterium zur Auswahl geeigneter Kunststoffe dient die in vitro gemessene Spontangerinnungszeit nach einem verbesserten, standardisierten (s.S. 95) BORKER-Test (33). Die Ergebnisse an Proben handelsüblicher und einiger medizinisch angewandter Chemiewerkstoffe sind in Tab. 7 zusammengestellt. Als Spontangerinnungszeit (SGZ) ist der Mittelwert aus drei verschiedenen Messungen mit Nativblut des gleichen Spenders in Minuten angegeben. Für die meisten Kunststoffe technischer Qualität ergibt sich in engen Grenzen ein Wert um 20 Minuten. Deutliche Ausnahmen bilden das für jeden Versuch neu, steril und ohne Oberflächenkontamination aus Einmalspritzen entnommene "medical grade" (m.g.) PE und PP. Auch das unsterile m.g. PDMS liegt in seiner gerinnungshemmenden Wir-

kung, wenn auch unwesentlich, über den Vertretern technischer und reiner Qualitäten. Diese Ergebnisse unterstreichen die eingangs erwähnte Bedeutung hochreiner Polymerer und deuten gleichzeitig

MATERIAL	REINHEIT	TYP	SGZ min.
Glas	technisch	DURAN 50	5,9
Polyvinylchlorid	technisch	HOSTALIT	17,2
Polystyrol	rein	STYRON	17,4
Polyamid-6.6	technisch	KALLE	19,3
Poly- α -cyanacrylat	technisch	DELO CA 11	21,3
Polyäthylen	technisch	HOSTALEN	21,7
Polytetrafluoräthylen	technisch	HOSTAFLOX TF	22,9
Polyäthylen	m.g. } ste-	AMEFA	29,4
Polypropylen	m.g. } ril	AMEFA	31,6
Polydimethylsiloxan	technisch	WACKER SK 1	20,4
Polydimethylsiloxan	rein	WACKER R 660 VF	22,3
Polydimethylsiloxan	m.g.	SILASTIC	22,8
Copolyesterurethan	technisch	ESTANE 5707 F 1 DMF	20,8
Copolyesterurethan	technisch	ESTANE 5707 F 1 THF	22,5

Tab. 7 Spontangerinnungszeiten an einigen handelsüblichen Kunststoffen
 Alle Polymere technischer Herkunft weisen bei der Versuchstemperatur von 20° C Spontangerinnungszeiten von etwa 20 min auf. Ausnahme sind steriles medical grade Polyäthylen und Polypropylen. Zur Prüfung des physiologischen Verlaufs dient als Vergleichsmaterial DURAN Glas (Normalwerte: 3 - 5 min bei 37° C, 6 - 8 min bei 20° C)

die Zweckmäßigkeit des gewählten Untersuchungsverfahrens an, bei dem als Kontrolle auf unphysiologische Veränderungen die Gerinnung auf Glas als innerer Standard dient.

Als nächster Schritt zu reinen Polymeren bietet sich die Darstellung des PA-6.6 durch Phasengrenzcondensation aus Hexamethylen-diamin und Adipinsäuredichlorid nach bekanntem Verfahren (34) an (V. 71). Styrol läßt sich durch Polymerisation mit Naphthalin-Na-

trium (sog. "lebende Polymere") (35) unter noch schonenderen Bedingungen in hochreines PS mit besonders geringer Molekulareinheitlichkeit ($U \rightarrow 1$) überführen (V. 72). Die gemessenen SGZ in Tab. 8 stellen noch einmal die Bedeutung der Reinheit und der Struktur von Kunststoffen für die Wechselwirkung mit dem Gerinungssystem heraus.

Material	Behandlung/Herstellung	SGZ
PA	extrahiert	22,0
PE	extrahiert	27,6
PA	durch Grenzflächenpolykondensation	34,2
PS	als "lebendes Polymeres"	35,2

Tab. 8 Spontangerinnungszeiten an gereinigten Kunststoffen
Während die Extraktion an Polyamid nur mäßige Erfolge bringt, ist am Polyäthylen eine deutliche Verlängerung zu beobachten. Das molekulareinheitliche Polystyrol erweist sich gegenüber dem Polyamid als blutverträglicher.

Für die folgende Untersuchung der dispergierten Redoxkatalysatoren scheidet PA-6.6 als Matrix aus den o. a. Gründen aus. Als Polymermatrizen fällt die Wahl auf PS und technisches PUR; letzteres, um den Einfluß der Katalysatoren auf handelsübliche Chemiewerkstoffe zu prüfen. Das lineare Copolyesterurethan (GOODRICH ESTANE 5707 F 1) löst sich in Dimethylformamid (DMF) und Tetrahydrofuran (THF). Vorversuche ergaben, daß Folien aus THF bessere SGZ führen, als solche aus DMF, was sich durch nachgewiesene hartnäckige Adsorption des DMF erklären läßt. Die Bestimmung der Konzentrationsabhängigkeit zeigte, daß die optimale Beeinflussung der SGZ bei einem Katalysatorzusatz von 2 % liegt. Die gemahlenen und gesiebten (Teilchengröße zwischen 20 und 50 μ) Pigmente werden in 10 %-ige Lösungen von PS in Benzol (BZN) und PUR in THF eingerührt. Folien für die SGZ-Bestimmung entstehen nach Aufbringen dieser Lösungen auf Objektträger durch Verdunsten des Lösungsmittels. Die Ergebnisse sind in Tab. 9 zusammengefaßt. Die unterschiedliche Wirkung der Metallchelate in beiden Polymeren fällt auf. Während der Zusatz der Katalysatoren das thromboresistente Verhalten des hochreinen PS nur wenig beeinflusst, übertrifft die SGZ des technischen PUR im Falle des FeOPc (V. 25) auch

die Werte des PS. Daraus muß auf eine Beteiligung des Kunststoffs an der Aktivierung der Metallkomplexe geschlossen werden. Als Erklärung bietet sich eine im PS unmögliche koordinative Bindung der NH-Gruppen der Polyurethanbindung -OCONH- an die fünfte Koordinationsstelle der Metallzentralatome an. Das Verhalten der einzelnen Metalle stützt diese Deutung. Cu ist koordinativ vierwertig; Fe und Co sind sechswertig, wobei die Tendenz, die fünfte und sechste Koordinationsstelle mit Liganden zu besetzen, zum Fe hin ansteigt. Daher hat CuPPc einen negativen, die verschiedenen Co-Komplexe einen kleinen positiven und die Fe-Derivate einen großen positiven Einfluß auf die Geschwindigkeit der Gerinnselbildung auf den PUR-Folien. Die verschiedenen Fe-Phthalocyanine genügen

Katalysator- pigment		SGZ min.	SGZ min.
Typ	V.Nr.	2 % in PS	2 % in PUR
CoTAA	5a	37,2	28,6
FePc	7c	38,4	40,1
CoOPc	54	37,4	36,5
CuOPc	55	27,2	17,8
FeOPc	25	40,7	45,7
CoPPc	45	32,1	38,4
CuPPc	50	28,4	20,5
CuPPc	59	29,0	19,8

Tab. 9 Spontangerinnungszeiten einiger in Polystyrol und Copolyesterurethan dispergierten Redoxkatalysatoren

in ihrer unterschiedlichen Wirkung den bei der Elektrokatalyse der Sauerstoffreduktion vermuteten Beziehungen. Die Tatsache, daß sich diese Verhältnisse an den entsprechenden Co-Produkten nicht wiederfinden, läßt den Schluß zu, daß neben der Fähigkeit zur Redoxkatalyse eine weitere Eigenschaft der Fe-Phthalocyanine die Thromboresistenz beeinflußt. Ein Versuch zeigt den Unterschied: an FePc beschichtetem PYC ist die SGZ gegenüber PYC allein nicht verkürzt, obwohl sich gemäß Abb. 22 hier Potentiale von +0,3 V einstellen und die Ruhepotentialmessung im Kontakt mit Blut einen Wert von +0,25 V ergibt.

Nach den dargestellten Ergebnissen liegt es nahe, die kovalente Bindung von Redoxkatalysatoren auf Polymeren für PUR als Polymermatrix und FeOPc auszuarbeiten. PUR lassen sich durch Phasengrenzkondensation auch in struktureinheitlicher hochreiner Form darstellen und verfügen über das bereits erwähnte (s.S. 25) breite Eigenschaftsspektrum. Die guten Ergebnisse an technischem PUR (GOODRICH-ESTANE 5707 F 1) machen eine besondere Polymersynthese zunächst unnötig. Zur kovalenten Bindung sind die reaktiven Voraussetzungen des PUR und des FeOPc zu erarbeiten und danach geeignete Verknüpfungsreagenzien zu finden.

2. Reaktive Voraussetzungen an FeOPc und ESTANE 5707 F 1

Als Träger der kovalenten Bindung auf der Seite des Phthalocyanins kommen nur die funktionellen Gruppen am Rande des Moleküls in Betracht. Eine Verknüpfung am makrozyklischen Ringsystem oder an den Benzolkernen führt zur Aufhebung der Elektronenkonjugation und damit zum Verlust der katalytischen Fähigkeit. In Abhängigkeit von der Herstellungsmethode und dem Reinigungsverfahren sind bestimmte Atomverbände auf der jeweils dem inneren Ring abgewandten Seite des Benzolkernes möglich. Bei den in dieser Arbeit durchgeführten Darstellungsmethoden lassen sich die Strukturen der o-Dicarbonsäure, des Anhydrids, des Imids, des o-Dicarbonsäurediamids und des o-Dicyanids erwarten. Die Strukturen des Imino-Imids, des Diiminoimids und des Amino-imino-imids sind möglich, doch schließt der Stickstoffgehalt nach der Elementaranalyse diese Gruppen aus. Die erstgenannten Randgruppen können auch nebeneinander auftreten.

Ein Verfahren, Kenntnisse über reale Randgruppenstruktur und -verteilung zu gewinnen, stellt die IR-Spektroskopie dar. Die Zuordnung der Banden zu bestimmten Randgruppen erschwert sich durch Überlagerung mit den Schwingungen des makrozyklischen Ringsystems. Die Synthese niedermolekularer Modellsubstanzen mit analogen funktionellen Gruppen führt zu Produkten, die eine Zuordnung ermöglichen. Wie erwähnt, erfüllen die Ausgangssubstanzen für die Darstellung des TCB diese Anforderungen. Der Vergleich der IR-Spektren 5 bis 8

mit Spektrum 11 des FeOPc liefert einen Hinweis auf die Imidstruktur als funktionelle Randgruppe. Darüber hinaus zeigen die Spektren 9 bis 13 durch die Unbeeinflussbarkeit von Aufarbeitungsverfahren und durch die Existenz der Imidbanden bei den aus TCB hergestellten Produkten die hohe Stabilität und die bevorzugte Bildung der Imidgruppe.

Aromatische Carbonsäureimide reagieren durch die elektronenziehende Wirkung der beiden α -ständigen Carbonylgruppen sauer. Die leichte Substitution des Imidwasserstoffatoms ermöglicht eine Reihe von Umsetzungen, die sich auch zur kovalenten Verknüpfung mit der Polymermatrix benutzen lassen.

Um über die Möglichkeiten zur kovalenten Bindung seitens des Polyurethans Aussagen machen zu können, wird eine Analyse des ESTANE-5707 F 1 durchgeführt. Abb. 23 zeigt hierzu das IR-Spektrum 14 eines ESTANE-Films. Im unteren Teil der Abb. 23 ist die aus den Infrarotabsorptionen und der Elementaranalyse folgende Struktur angegeben. Die Banden bei 720, 770 und 820 cm^{-1} weisen als Isocyanatkomponente das 4.4'-Diphenylmethandiisocyanat (DPMDI) aus. Die im Vergleich zur Urethanabsorption bei 1540 cm^{-1} wesentlich intensivere Bande bei 1725 cm^{-1} (Oberlagerung der Carbonylschwingungen von Ester- und Urethanstruktur) und die ausgeprägten Absorptionen bei 1140 und 1175 cm^{-1} sprechen für ein Polyesterurethan. Der Vergleich mit bekannten Spektren (36) verschiedener Polyester (Desmophentypen) deutet auf einen Adipinsäurebutandiol-1.4-polyester. Aus der Elementaranalyse mit C = 63,4 %, H = 6,9 % und N = 4,27 % läßt sich die Kettenlänge des Polyesters berechnen, indem das gesamte N auf DPMDI umgerechnet und von C und H abgezogen wird. Die gefundenen Daten stimmen am besten mit der dargestellten Struktur überein. Danach ist ESTANE 5707 F 1 ein lineares Copolyesterurethan, das durch Reaktion von DPMDI mit hydroxyterminiertem Polybutyladipat vom Molekulargewicht ca. 1000 gmol^{-1} und anschließende Kettenverlängerung mit 1,4-Butandiol entsteht. Ober das Molekulargewicht des Copolyesterurethans erlauben die

angeführten Methoden keine Aussagen. Eine Abschätzung aus Viskositätsmessungen ergibt einen Wert von $100\,000 \pm 20\,000 \text{ g mol}^{-1}$.

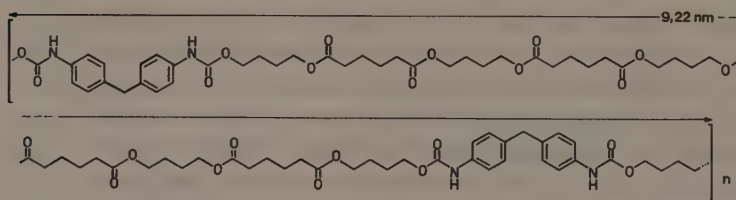
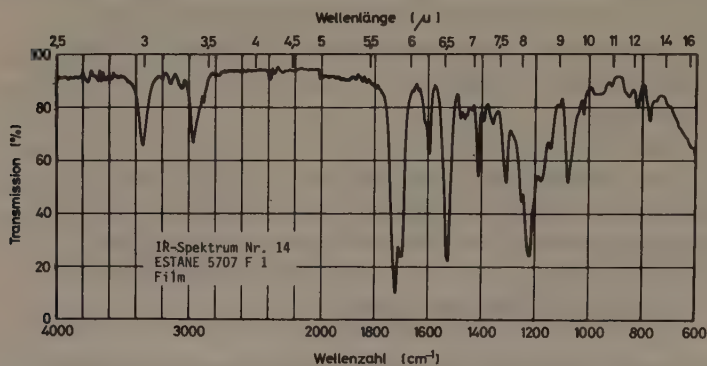


Abb. 23 Infrarotspektrum des ESTANE 5707 F 1

Die spektroskopierte Folie entstand durch Auflösen von 117 mg Polyurethan in 10 ml Tetrahydrofuran und Aufbringen von 1 ml dieser Lösung auf ein NaCl-Küvettenfenster (41,3 x 22,7 mm) nach Verdunsten des Lösungsmittels.

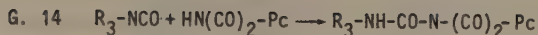
Auch Copolyesterurethane können an der NH-Gruppe der Urethanbindung O-CO-NH mit einigen Reagenzien weiterreagieren. Für eine Verknüpfung mit einem Phthalocyanin bekommt deshalb die Anordnung der NH-Gruppen auf der Oberfläche des Kunststoffs Bedeutung. Die in Abb. 23 eingetragenen Abstände innerhalb der Kette ergeben sich unter der Annahme eines für jede Bindung gleichen Bindungsabstandes von 150 pm und eines Bindungswinkels von $109^{\circ}28'$ (Tetraederwinkel). Unter diesen Vereinfachungen folgt ein Abstand von 9,22 nm von NH-Gruppe zu NH-Gruppe; der Fehler dieser Abschätzung liegt bei den betrachteten Bindungstypen um 10 %.

Polyurethane kristallisieren ähnlich den Polyamiden in der β -Keratinstruktur der Proteine. Für eine reale Oberflächenstruktur existieren demnach hochgeordnete kristalline Bereiche von $10\text{-}50\text{ nm}^2$, in denen die NH-Gruppen im Abstand von $9,22\text{ nm}$ durch Wasserstoffbrückenbindungen stabilisierte Ketten bilden. Die kristallinen Bereiche werden von mehr oder weniger großen amorphen Zonen mit unregelmäßiger Anordnung der Molekülketten unterbrochen. Die Aufteilung und Größe der kristallinen und amorphen Abschnitte hängt in starkem Maße von der Art der Verarbeitung des Kunststoffes zum Endprodukt ab. Verfahren, bei denen die Makromoleküle genügend Zeit zur Ausbildung geordneter Bereiche haben, liefern Produkte hoher Kristallinität, während z. B. die Verarbeitung durch Spritzguß zu überwiegend amorphen Strukturen führt. Die zur Herstellung der Teströhrchen angewandten Methoden verlaufen über Polymerlösungen und eignen sich durch definiertes Abdampfen des Lösungsmittels besonders, kristalline Strukturen zu erzeugen.

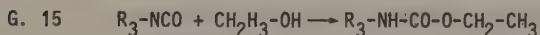
3. Verknüpfungsreagenzien und Pfropfreaktionen

Jede im Block eines Polymeren durchgeführte Reaktion verändert dessen Eigenschaften. Besondere Polymereigenschaften, z. B. hohe Flexibilität, haben für bestimmte biomedizinische Anwendungen entscheidende Bedeutung. Reaktionen, die sich auf die Oberfläche von Polymeren beschränken, heißen Pfropfreaktionen und beeinflussen die Eigenschaften des Substrats wenig. In Bezug auf die Konstruktion medizinischer Ersatzteile ergibt sich dadurch der Vorteil, daß sich das entsprechende Substitut direkt vor der Implantation thromboresistent ausrüsten läßt.

Das Verknüpfungsreagenz muß im Sinne der angestrebten Reaktion bifunktional sein. Für die Anwendung auf vielen Kunststoffen erweisen sich solche funktionellen Gruppen als vorteilhaft, die mit möglichst vielen Strukturelementen reagieren. Die getroffene Auswahl ist in Tab. 10 wiedergegeben. Cyanursäurechlorid reagiert unter nukleophiler Substitution der angegebenen Wasserstoffatome.



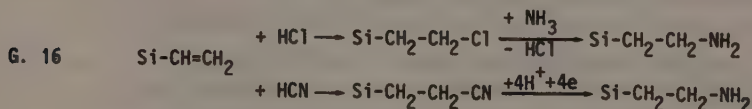
schritt addiert sich eine Isocyanatgruppe an die NH-Gruppen des PUR unter Allophanatbildung. Obwohl nach Betrachtungen am Strukturmodell die Reaktion der zweiten NH-Gruppe des PUR einer sterischen Behinderung unterliegt, ist ein Überschuß an DPMDI zu vermeiden, um die Weiterreaktion der NH-Gruppe des einseitig abreagierten Isocyanats mit weiteren DPMDI unter Ureidbildung zu verhindern. Diese Vorsichtsmaßnahme läßt sich experimentell nicht realisieren (die erforderliche Menge DPMDI für 10 Prüfröhrchen beträgt 10^{-11} Mol). Als Lösungsmittel für die erste Reaktionsstufe dient BZN, darin ist PUR vollständig unlöslich. Die zweite Reaktion erfolgt in Pyridin, in dem sich FeOPc in geringem Maße löst. PUR quillt in Fyridin, folglich muß die Reaktion nach G. 14 für eine formstabile Beschichtung schnell sein. Dieser Forderung kommt der acide Charakter des Imidwasserstoffs und die gleichzeitige basische Katalyse durch das Pyridin entgegen. In einer G. 13 analogen Reaktion (G. 14) addiert sich die zweite Diisocyanatgruppe des DPMDI nun an das Imid. Da jedes FeOPc-Molekül über mehrere Imidgruppen verfügt und die PUR-Matrix wie gezeigt die räumliche Voraussetzung dafür bietet, läßt sich die Ausbildung mehrerer Bindungen erwarten. Daraus resultieren zwei Vorteile: einerseits stabilisieren sich die einzelnen Bindungen gegenüber Hydrolyse oder enzymatischem Angriff, andererseits ergibt sich dadurch für das ebene FeOPc-Molekül eine vorbestimmbare Orientierung: das makrozyklische Ringsystem muß sich parallel zur Kunststoffoberfläche anordnen. In einer dritten Reaktion (G. 15) in reinem Äthanol werden überschüssige Isocyanatgruppen in Urethangruppen überführt.



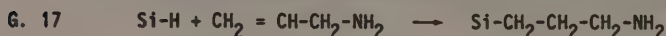
Die Reaktionen am System PUR/FeOPc lassen sich auf andere medizinisch wichtige Polymere übertragen. In den PA können die NH-Gruppen der Peptidbindungen z. B. ähnlich wie diejenigen der Urethangruppen

unter Allophanatbildung reagieren. Wegen der festeren Bindung des Protons in der Peptidbindung ist der Zusatz eines stark basischen Katalysators, z. B. Triäthylendiamin, für die vorstehend beschriebene Reaktion erforderlich.

Bei den in der Medizin Anwendung findenden Siliconen handelt es sich fast ausschließlich um Polydimethylsiloxane (PDMS). Sie entstehen durch Polykondensation von Dichlorsilanen mit Wasser. Bei Abwesenheit organofunktionaler Gruppen in den Polymermolekülen läßt sich eine Pfropfreaktion nicht durchführen. Vulkanisierbare Silicone enthalten neben Methylgruppen ca. 1 % Vinylgruppen als Vulkanisationsbeschleuniger. Im Vulkanisationsprozeß verlängern sich die Praepolymerketten unter dem Einfluß von Dibenzolperoxid oder einem ähnlichen Initiator nach einem Radikalkettenmechanismus zu einem elastomeren Produkt. Durch Vergrößern des Anteils an Dichlormethylvinylsilan auf 10-20 % oder durch Zusatz einer eben-solchen Menge Dichlormethylsilan lassen sich auch Silicone Pfropfreaktionen zugänglich machen. Polymeranaloge Umsetzungen erlauben an so ausgerüsteten PDMS die Einführung von zur Pfropfreaktion befähigten Gruppen: im Falle des Vinylsilans nach G. 16 durch Anlagern von Blausäure und Reduktion zum Amin oder durch Anlagern



von HCl und Substitution durch Ammoniak. Methylsilan ist nach G. 17 zur Anlagerung von Doppelbindungen befähigt. Die Umsetzung mit 1-



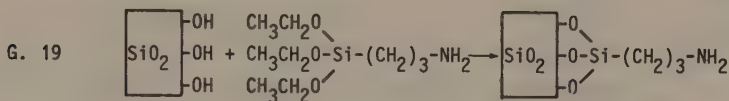
Aminopropen-2 ergibt zur Reaktion mit DPMDI fähige Propylaminogruppen. Beide Reaktionen haben den erwähnten Nachteil, daß sie sich auf den gesamten Polymerblock beziehen.

Die meisten Siliconkautschukfertigprodukte enthalten Quarzmehl als

Füller. Die Silanolgruppenhaltigen SiO_2 -Partikel können zu Oberflächenreaktionen herangezogen werden. Die direkte Umsetzung mit DPMDI läßt sich nach G. 18 formulieren; die Reaktion ist jedoch zu



langsam. Behandeln des Siliconkautschuks mit γ -Aminopropyltriäthoxysilan führt nach G. 19 zu der benötigten Aminogruppe. Die Bindung des FeOPc läßt sich nun wie bei den PUR beschrieben durchführen.



Auch an Polyesternern vom Typ des PETP entstehen durch Hydrolyse zur Reaktion mit DPMDI geeignete Akzeptoren. Auch diese Reaktion kann als Oberflächenreaktion ausgeführt werden; nach Tab. 10 reagieren sowohl die entstandene Säure wie der entstandene Alkohol mit dem DPMDI.

Praktisch alle Polymere lassen sich mit Hilfe energiereicher Strahlung Pfropfreaktionen zugänglich machen. Photolytisch oder radiolytisch erzeugte Radikale auf der Oberfläche eines Kunststoffs reagieren mit einem geeigneten polymerisationsfähigen Monomeren, z. B. Styrol, nach einem Radikalkettenmechanismus. Die durch aufgepfropftes Styrol modifizierte Oberfläche läßt sich chlormethylieren, anschließende Substitution des $-\text{Cl}$ durch $-\text{NH}_2$ ergibt die für die Reaktion mit DPMDI notwendige funktionelle Gruppe.

4. Ergebnisse und Vergleich mit AVCOTHANE

Die Ergebnisse der SGZ-Messung an den mit kovalent gebundenem FeOPc ausgerüsteten Polymeren sind tabellarisch zusammengefaßt (vgl. Tab. 11). Die von Bindungstyp und Struktur ähnlichen Polymere PA und PUR ergeben auch ähnliche Verzögerungen der Spontangerinnungszeit.

In beiden Fällen handelt es sich um technische Kunststoffe, deren SGZ durch kovalente Bindung von FeOPc auf den mehr als dreifachen Wert gesteigert werden konnte. Der SGZ-Abfall des quarzgefüllten PDMS resultiert aus der Verteilung und der Zugänglichkeit der Si-

Material	Behandlung	Typ	Hersteller	SGZ min.
Blockcopolymer PUR/PDMS	-	AVCOTHANE 51	AVCO-EVERETT	48,6
Blockcopolymer PUR/PDMS	aufgelöst und neue Folie hergestellt	AVCOTHANE 51	AVCO-EVERETT	45,3
PDMS/SiO ₂	γ-APTES/ DPMDI/FeOPc	SILASTIC	DOW CORNING	53,8
PA	DABCO/DPMDI/ FeOPc	NYLON-6.6	KALLE	60,7
PUR	DPMDI/FeOPc	ESTANE 5707 F 1	GOODRICH	61,4

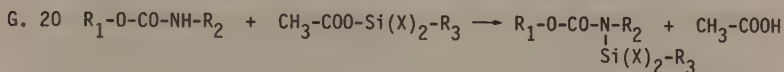
Tab. 11 Spontangerinnungszeiten an kovalent mit oligomerem Eisenphthalocyanin verknüpften Polymeroberflächen
Für AVCOTHANE sind die jeweils längsten gemessenen Zeiten angegeben. Für behandelte Polyamide und Polyurethane hat die Spontangerinnungszeitmessung die Grenze der Aussagefähigkeit erreicht. Der leichte Abfall des behandelten Polydimethylsiloxans läßt sich durch ungenügende Verteilung des Quarzmehls erklären.

liziumpulver. Durch die statistische Verteilung ist eine gleichmäßige Beschichtung der Oberfläche erschwert. Darüber hinaus liegen die Teilchen im Polymeren eingebettet und sind erst durch den Einsatz quellender Lösungsmittel den beschriebenen Pfropfreaktionen zugänglich.

Erheblich kürzere SGZ weist das als besonders thromboresistent propagierte AVCOTHANE 51-Elastomer auf. Ein Teil der Proben wurde direkt einem vom Hersteller gefertigten IABP-Katheter entnommen. Weitere Prüflinge entstanden durch Auflösen des Polymeren in THF und Herstellung neuer Folien auf Objektträgern nach beschriebenem Verfahren. In der Tab. 12 sind die Maximalwerte der drei Bestimmungen angegeben. Die Größe der Streubreite macht die Angabe eines Mittelwertes unzulässig.

Die Untersuchungen an allen anderen beschriebenen Kunststoffen ergaben gut reproduzierbare Meßwerte, so daß ein Mangel im Meßverfahren unwahrscheinlich erscheint. Um Gründe für die Abweichungen zu finden, wird eine analytische Untersuchung des AVCOTHANE 51 vorgenommen.

Die als AVCOTHANE bezeichneten Blockcopolymere bestehen aus einem linearen Copolyester- oder Copolyätherurethan und über SiN-Bindungen gebundenen Blöcken aus Polydialkyl(aryl)siloxanen. Die Kondensationsreaktion nach G. 20 mit R_1 und R_2 als Resten des Copolyester-



(äther)urethans um eine Urethanbindung, R_3 dem Rest der Polydialkyl(aryl)kette und X weiteren Substituenten am verknüpfenden Si-Atom (z. B. O, Cl, OOCCH_3) läßt sich in absoluten, wasserstoffbrückenschwächenden Lösungsmitteln wie THF, Dioxan, Methyläthylketon usw. bei erhöhten Temperaturen ausführen. Die Darstellung der Komponenten ist bekannt: Copolyäther(ester)urethane entstehen durch Umsatz hydroxyterminierter Poly(äther)ester mit überschüssigen Diisocyanaten und anschließender Kettenverlängerung mit α -, ω -Diolen. Acetatgruppen-versiegelte Silicone bilden sich bei der Reaktion von Methyltriacetoxysilan mit den üblichen OH-gruppenhaltigen Dialkyl(aryl)polysiloxanen.

Abb. 24 zeigt im oberen Teil das IR-Spektrum 15 zur Bestimmung der einzelnen Komponenten des zusammengesetzten Systems. Um reproduzierbare Bandenverhältnisse zu bekommen, wurde das Spektrum eines Films aus einer Lösung von 14,5 mg AVCOTHANE in 1 ml THF auf einer NaCl-Platte (13 x 41 mm) registriert. Der Vergleich mit einer direkt nach der Entnahme aus dem IABP-Katheter spektroskopierten Probe begründet durch die, abgesehen von der unterschiedlichen Transmission, gleiche Bandenlage die Zulässigkeit der Filmtechnik. Das Spektrum weist durch die charakteristische Bandenkombination als Hauptbestandteil einen aliphatischen Polyäther aus. Das Bandenverhältnis zwischen der Bande bei 1110 cm^{-1} und 1370 cm^{-1} sowie

die intensive Absorption bei 2865 cm^{-1} deuten auf Polypropylenoxid als Komponente hin. Bei der Isocyanatkomponente, die wegen ihrer geringen Konzentration schwer zu erkennen ist, dürfte es sich aufgrund der Banden um 1600 cm^{-1} um ein aromatisches Produkt, wegen der Schulter bei 2930 cm^{-1} um 2,4-Toluoldiisocyanat, 2,6-Toluoldiisocyanat oder ein Gemisch von beiden handeln. Die Siliconkompo-

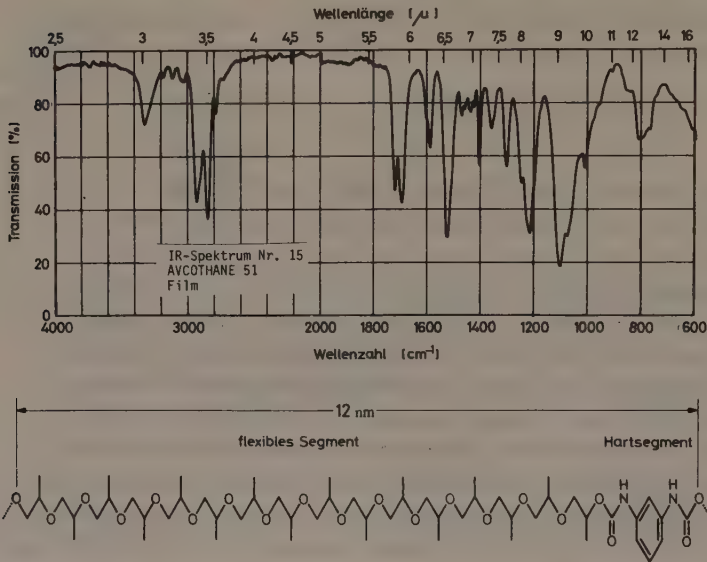


Abb. 24 Infrarotspektrum und Struktur des AVCOTHANE 51 Elastomers

Das Spektrum stellt im wesentlichen die charakteristischen Bandenkombinationen eines Polyätherurethans dar. Die für Polydimethylsiloxane typischen Schwingungen sind stark verdeckt. Die sich aus der Elementaranalyse und dem Spektrum ergebende Struktur der Polyurethankomponente ist im unteren Teil der Abb. dargestellt.

nente ist direkt aus dem Spektrum nicht zu erkennen. Versuche, die AVCOTHANE-Folie mit hochverdünnten Lösungen von acetatverblocktem PDMS (WACKER SK 1) in Methylenchlorid zu behandeln, liefern den Hinweis, daß die Banden 800, 1015 und die ausgeprägte Schulter bei 1265 cm^{-1} zu einem im Unterschuß vorhandenen PDMS gehören.

Fraglich bleibt, ob eine SiN-Bindung vorliegt, da einerseits eine für die Streckschwingung ν -Si-N typische Bande, die im Bereich von $950 - 830 \text{ cm}^{-1}$ erscheinen müßte, vollständig fehlt, andererseits das Transmissionsverhältnis der aromatischen ν -C-C- zu den entsprechenden ν -N-H-Schwingungen nicht auf eine deutliche Reduktion des Urethanwasserstoffs schließen läßt, die nach der geforderten Umsetzung hätte eintreten müssen. Beim längeren Stehen einer AVCOTHANE-Lösung tritt eine Entmischung in zwei Phasen auf, ein weiterer Hinweis, daß im AVCOTHANE kein reines Blockcopolymeres, sondern eine Mischung aus PUR und PDMS vorliegt.

Die Elementaranalysen mit C = 62,12 %; H = 8,47 %; N = 2,85 %; Glührückstand = 1,41 % und C = 63,23 %; H = 8,76 %; N = 2,73 %; Glührückstand = 1,48 % aus verschiedenen Proben desselben Katheters zeigen eine Uneinheitlichkeit des Polymeren, die u. U. auch für die variablen SGZ verantwortlich ist. Unter der Annahme, daß der gesamte Glührückstand als SiO_2 vorliegt, läßt sich auf PDMS umrechnen und von den Analysenwerten abziehen. Die analog durchgeführte Operation für N als 2,6-Toluoldiisocyanat ergibt dann die Elementarverhältnisse der Polypropylenoxidentkomponente. Aus den Ergebnissen folgt die im unteren Teil der Abb. 24 angegebene Struktur der Polyurethantkomponente des AVCOTHANE 51 mit entsprechend zum ESTANE 5707 F 1 (s.S. 75) berechneten Identitätsperioden.

Über das Molekulargewicht und die Molekulargewichtsverteilung der SI- und der PUR-Komponente lassen sich keine genauen Angaben machen. Nach einer elektronenmikroskopischen Aufnahme (17), bei der sich zwei voneinander abgegrenzte, aber verwobene Faserbündel zeigen, die bei 180 000-facher Vergrößerung mindestens eine Länge von 1 mm aufweisen, kann das Molekulargewicht der Siliconkomponente abgeschätzt werden. Grundlage der Berechnung sind: PDMS, 6_1 -Helix, Wendelabstand 400 pm. Damit ergibt sich bei der gegebenen Vergrößerung eine Mindestkettenlänge von 5,4 nm, entsprechend einem Molekulargewicht des PDMS von 6000 g mol^{-1} . Die Ergebnisse der Elementaranalyse gestatten nur für jede fünfte Isocyanatgruppe die

Zuordnung einer einzigen Dimethylsiloxaneinheit - $\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{O}$ -. Für das geforderte Molekulargewicht sind 81 Grundbausteine erforderlich, d. h. nur jede vierhundertste Isocyanatgruppe trägt einen PDMS-Rest. Diese Abschätzung erklärt die schlechte Auflösung der Siliconbanden im IR-Spektrum.

Nach diesen Ergebnissen muß der Deutung des Herstellers, der für die thromboresistenten Eigenschaften des AVCOTHANE die fehlenden Möglichkeiten zur Wasserstoffbrückenbindung der Urethan-NH-Gruppe mit Carboxylgruppen der Gerinnungssubstanzen verantwortlich macht, widersprochen werden. Nach dieser Hypothese müßten Materialien wie PE, PP usw. vollständig thromboresistent sein, was erwiesenermaßen nicht der Fall ist. Darüber hinaus reicht die durch Bildung von Wasserstoffbrücken freiwerdende Energie von 4-5 kcal/mol Bindung i. a. nicht aus, um ein natives Protein zu denaturieren, wenn nicht zusätzlich die neue Konformation stabilisierende Effekte wirksam sind. Schließlich zeigt die angestellte Untersuchung, daß AVCOTHANE 51 sehr wohl von Urethanbindungen herrührende NH-Gruppen aufweist (vgl. Spektrum 15). Die beobachtete geringe Thromboresistenz läßt sich eher durch den ständigen Wechsel zwischen hydrophilen und hydrophoben Bindungsstrukturen erklären.

E. PROFUNG DER GERINNUNGSEHMMENDEN EIGENSCHAFTEN

Die Einflüsse des biologischen Mediums lassen sich in keinem in vitro Versuchsmodell simulieren, daher muß die Prüfung der Langzeitstabilität der präparierten Kunststoffe letztlich in vivo erfolgen. Da in vivo Versuche aufwendig und mit hohen Kosten verbunden sind, ergibt sich die Notwendigkeit, die Anzahl der durch Oberflächemodifikation mit Redoxkatalysatoren thromboresistent präparierten Kunststoffe weiter einzuzugrenzen.

Im Anschluß an den mit chemischen Methoden geführten Nachweis der kovalenten Bindung des Redoxkatalysators auf die Polymermatrix erlaubt ein für die Untersuchung polymerer Proben entwickeltes in vitro Verfahren die Auswahl eines Redoxkatalysator-Kunststoff-Systems, das in vivo die besten Ergebnisse erwarten läßt.

Die abschließende in vivo Untersuchung erfolgt nach einem neuen Verfahren, das die bisher beobachteten Schwierigkeiten der in vivo Prüfung weitgehend vermeidet.

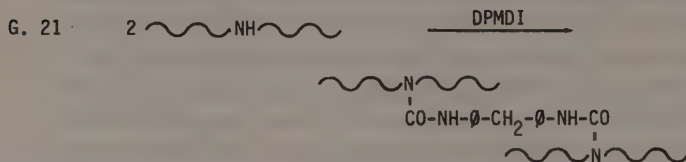
1. Prüfung der postulierten Umsetzungen

Die behandelten Prüfringe für die in vitro und in vivo Untersuchungen haben Oberflächen von $200 - 300 \text{ mm}^2$. Bei vollständiger Bedeckung der Oberfläche mit einer monomolekularen Schicht von FePc ergibt sich ein Reaktionsumsatz von ca. $3 \times 10^{-10} \text{ mol}$, entsprechend $0,189 \text{ µg}$ FePc. Bei diesen geringen Konzentrationen ist ein Bindungsnachweis mit klassischen analytischen Methoden nicht möglich. Dagegen eignen sich die Messung der Oberflächenleitfähigkeit, bzw. der Katalaseaktivität sowie die Ergebnisse der Gerinnungstests zum Nachweis des FeOPc auf PUR. Der Oberflächenwiderstand an einer ebenen, nach V.77 behandelten PUR-Folie, gemessen über zwei 10 mm breite Metallschneiden im Abstand von 10 mm , ergibt $120 \text{ M}\Omega$. Die in Tab. 6 dargestellten Ergebnisse der Messungen an Volumenproben hätten extrapoliert auf die hier vorliegenden Folien einen Wert von $480 \text{ M}\Omega$ ergeben

müssen. Die Abweichung läßt sich mit einer bevorzugten Anordnung der einzelnen FeOPc-Moleküle durch die damit verbundene Erniedrigung der Aktivierungsenergien für den Tunnelmechanismus der Leitfähigkeit und die durch eine koordinative Beteiligung der NH-Gruppen im PUR mit den fünften Koordinationsstellen des Fe bewirkte Verkleinerung des effektiven Ionenradius erklären.

Mit der Leitfähigkeit erhöht sich auch die Katalaseaktivität. Zur Messung dient die beschriebene (s.S. 64) Apparatur, indem die Schliffeinsätze durch ein Röhrchen für den in vivo Test ausgetauscht werden. Die Meßzeit für eine Extinktionsänderung $\Delta \epsilon$ von 0,02 beträgt für 5 ml einer 10^{-4} m H_2O_2 -Lösung 25 h. Zu erwarten nach der auf der Oberfläche gebundenen Menge wäre eine Zeit von 73 h, d. h. die Katalaseaktivität steigt an einer Beschichtung stärker an als die Leitfähigkeit. Auch dieses Verhalten läßt sich durch die Anordnung des FeOPc auf dem PUR und die Beteiligung der NH-Gruppen an der Koordination des Fe deuten. Bei den zermahlenen Kristalliten im Versuch am reinen Katalysator waren nur die an der Oberfläche gelegenen FeOPc-Moleküle aktiv; bei der kovalenten Bindung ist jedes einzelne Fe-Atom ein durch die elektronenliefernde Koordination der NH-Gruppen verstärktes Zentrum der H_2O_2 -Zersetzung. Trotz der erhöhten Katalaseaktivität ergibt die Ruhepotentialmessung (s.S. 68) keine Verschiebung zu positiven Potentialen.

Um das Vorliegen einer kovalenten Bindung chemisch zu prüfen, sind höhere Reaktionsumsätze erforderlich; die benötigten Umsätze lassen sich durch Reaktionen im Block anstelle der Oberfläche des Polymeren erreichen. Für die Reaktion nach G. 13 ist zu beachten, daß nun das



DPMDI im großen Überschuß vorhanden sein muß, damit die einzelnen Poly-

merknetten nicht nach G. 21 vernetzen. Diese Forderung läßt sich durch langsames Eintropfen einer 10 % Lösung von ESTANE 5707 F 1 in PYR in die vorgelegte Lösung der bezogen auf NH-Gruppen 10-fachen molaren Menge DPMDI in PYR (V. 75) erfüllen. Nach der Umsetzung wird das modifizierte PUR mit Benzol gefällt und unter N_2 getrocknet. Abb. 25 zeigt das unter Ausschluß von Feuchtigkeit aufgenommene IR-Spektrum. Charakteristisch ist die bei 2260 cm^{-1} auftretende Bande der verbleibenden zweiten Isocyanatgruppe. Im übrigen ist das Spektrum mit dem des ESTANE 5707 F 1 identisch. Die verminderte Transmission der PUR-Banden bei $1725, 1530, 724\text{ cm}^{-1}$ kommt durch Allophanatbildung mit dem DPMDI zustande. Gemäß G. 13 tritt dabei für jedes Urethan -NH ein Allophanat -NH auf, so daß die Absorption der NH bei 3340 cm^{-1} konstant bleibt.

Bei der folgenden Reaktion nach G. 14 fließt umgekehrt das in PYR gelöste modifizierte PUR in vorgelegtes überschüssiges ebenfalls in PYR gelöstes FeOPc. In beiden Reaktionen dient PYR nicht nur als Lösungsmittel, sondern gleichzeitig als basischer Katalysator für die Anlagerungsreaktion. Das mit Benzol gefällte Polymere gibt das im unteren Teil der Abb. 25 wiedergegebene Spektrum. Die Isocyanatbande ist deutlich reduziert, d. h. es hat die postulierte Reaktion mit dem FeOPc stattgefunden. Das FeOPc selbst zeigt sich in der algebraischen Addition im Spektrum durch die Banden bei $1765, 1120\text{ und }730\text{ cm}^{-1}$. Wegen des hohen Streulichtanteils bei stark adsorbierenden Proben verwischt die Amidbande bei 3340 cm^{-1} mit der Imidbande bei 3200 cm^{-1} und den ν -CH-Schwingungen zu einer einzigen nicht mehr aufgelösten Absorption bei 3100 cm^{-1} . Das Reaktionsausmaß läßt sich durch quantitative Bestimmung des Fe nach Zersetzen des präparierten Kunststoffes mit einem Gemisch aus konz. H_2SO_4/H_2O_2 mit EDTA zu 83 % bezogen auf N angeben. Die gute Ausbeute und die glatte Reaktion führen zu dem durch Leitfähigkeits- und Katalaseaktivitätsmessungen gestützten Schluß, daß die Pfropfreaktion analog verläuft und demgemäß eine kovalente Verknüpfung eintritt,

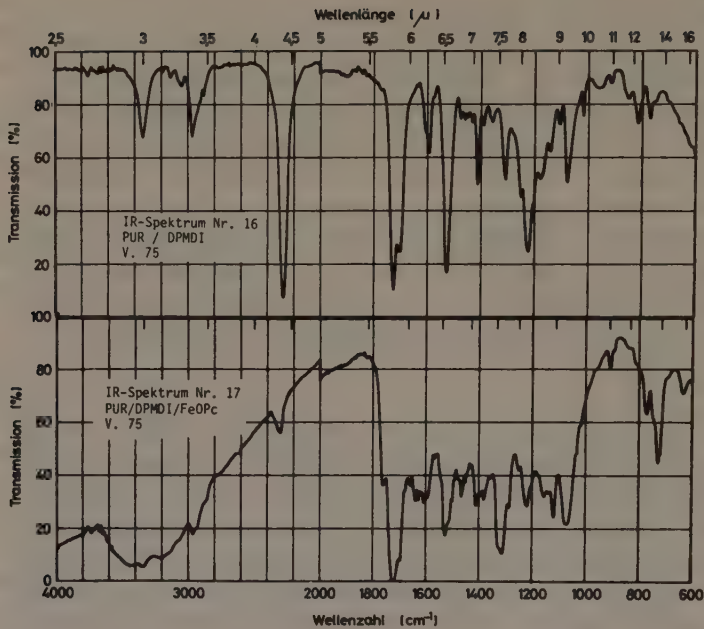


Abb. 25 Infrarotspektrum des mit DPMDI umgesetzten ESTANE 5707 F 1 (oben)
 Der beherrschende Peak ist die $\nu\text{-C}\equiv\text{N}$ Schwingung bei 2275 /cm von der noch unumgesetzten Isocyanatgruppe. Nach der Reaktion mit dem FeOPc verschwindet diese Bande zum größten Teil und beweist dadurch die Verknüpfung (unteres Spektrum).

2. Entwicklung eines in vitro-Testverfahrens zur Bestimmung der Thromboresistenz

Aus der klinischen Routine sind eine Reihe von Verfahren bekannt, hämorrhagische Diathesen global zu erfassen. Hierzu gehören die Bestimmung der Blutungszeit nach DUKE, der Blutgerinnungszeit nach LEE-White (37) der Thrombozytenzahl nach FONIO und das Thrombelastogramm nach HARTERT (38). Eine weitere Methode, die Gerinnungszeitmessung nach BÖRKER (33), wird heute wenig angewendet. Dennoch eignet

sich dieses Verfahren gerade für die hier behandelten Untersuchungen, da sich Messungen der Spontangerinnungszeit (SGZ) an ebenen Proben genau durchführen lassen. Bei diesem Test fällt ein Blutstropfen aus der Fingerbeere auf einen hohlgeschliffenen Objektträger; nach Verdünnen mit einem Tropfen Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung wird ein Glashäkchen alle 30 s durch den jeweils um 90° gedrehten Gerinnungsansatz gezogen, bis ein Fibrinfädchen am Glashäkchen hängenbleibt. Die Zeit vom Fallen des Blutstropfens bis zum ersten Fibrinfädchen ergibt die Gerinnungszeit.

In den aus dem BORKER-Verfahren abgeleiteten mechanischen Koagulometern betragen die Häkelintervalle eine halbe Sekunde und die Verwendung von Nativblut ist in den Gerinnungslabors i. a. nicht möglich. Hierin besteht der Grund für die schlechte Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Durch das Häkeln in kurzen Zeitabständen tritt mechanische Hämolyse auf, die den Gerinnungsablauf beeinflusst. Neben der mechanischen Zerstörung bestimmt der Zustand des Blutes zum Zeitpunkt der Messung das Ergebnis. Zum Nachweis werden die Rekalzifizierungszeiten einer einen Monat alten Blutkonserve, einer 20 Minuten alten Zitratblutprobe und die Spontangerinnungszeit einer kurz vor dem Versuch entnommenen Blutprobe verglichen. Die Blutentnahme für die SGZ erfolgt durch Venenpunktion mit einer Kanüle No. 1. Nach Aufhebung des Venenstaus werden die ersten 2 ml Blut verworfen, um eine Kontamination mit Gewebsthrombokinase zu vermeiden. Anschließend werden 4-5 ml Blut langsam aspiriert. Zur Bestimmung der Rekalzifizierungszeit werden in 4 auf 37° C vorgewärmte Reagenzgläschen aus AR-Glas je 200 µl Citratblut und 200 µl einer auf 37° C vorgewärmten 0,025 m CaCl_2 -Lösung pipettiert.

Die Ergebnisse zeigt Tab. 12. Angegeben sind die Einzelwerte aus vier Parallelmessungen und deren Abweichung vom Mittelwert. Der Mittelwert und die maximale Abweichung vom Mittelwert in der letzten Zeile weisen die Nativblutmethode wegen ihrer geringen Varianz als die überlegene Methode aus.

Vorversuche nach der BORKER-Methode ergaben, daß an Polymeren mit erheblich längeren SGZ zu rechnen ist. Daher war die Frage zu prüfen, wie lange mit einer einmal entnommenen Nativ-Blutmenge ohne konservierende Maßnahmen reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten sind. Die

Probe Nr.	Rekalzifizierte Blutkonserve	Rekalzifiziertes Citratblut	Nativblut
	Alter: 1 Monat	Alter: 20 min.	Alter: 2 min.
Blutgerinnungszeit sec (Δm)			
1	89,5 (+39,5)	112 (-20,6)	181 (-1,8)
2	100,5 (+50,5)	110,5 (-22,1)	187,5 (+4,7)
3	9,5 (-40,5)	147 (+14,4)	179,5 (-3,3)
4	0,5 (-49,5)	161 (+28,4)	183 (+0,2)
m, ($\Delta m_{\max}$)	50 (-49,5)	132,6 (+28,4)	182,8 (+4,7)

Tab. 12 Gerinnungszeiten verschiedener Blutproben auf Glas
 Angegeben sind die gemessenen Zeiten, deren Mittelwert m sowie die maximalen Abweichungen vom Mittelwert und Einzelabweichungen in Klammern. Die geringen Streuungen bei der Verwendung von Nativblut deuten die Überlegenheit der Spontangerinnungsmethode an.

Meßergebnisse an AR-Glas im o. a. Koagulometer sind in Tab. 13 dargestellt und zeigen, daß eine entnommene Probe bis zur Dauer von einer halben Stunde hinreichend reproduzierbare Resultate liefert. Die Blutprobe befindet sich bei Zimmertemperatur während der gesamten Meßdauer in der Einwegspritze, bestehend aus einem Polyäthylenzylinder und einem it.-Polypropylenkolben. Nach ca. 30 Minuten beginnt das Blut in der Spritze zu gerinnen. Dadurch bilden sich fibrinogenangereicherte und fibrinogenarme Volumenelemente in der Spritze. Durch zufällige Probenahme eines Volumenelementes folgen nun verkürzte bzw. verlängerte SGZ.

Neben den bisher besprochenen Methoden gibt es weitere Verfahren, die sich mit Nativblut durchführen lassen. Bei der SGZ nach LEE-WHITE werden 4 ml Venenblut auf 4 bei 37° C im Wasserbad stehende Glas-

röhrchen vom Durchmesser $d = 8$ mm verteilt. Die Röhrchen werden alle 30 s aus dem Wasserbad genommen und der Gerinnungszeitpunkt durch Neigung festgestellt. Der Mittelwert der vom Eintritt des Blutes in die Spritze bis zur Gerinnung vergehenden Gerinnungszeiten ist die LEE-WHITE-Blutgerinnungszeit. Dieses Verfahren weist folgende Nachteile auf: Der LEE-WHITE-Test läßt sich nicht an ebenen Proben durchführen, d. h. die Proberöhrchen müssen entweder mit dem zu untersuchenden Material beschichtet oder aus diesem gefertigt sein. Nach den vorliegenden Erfahrungen liegen die Werte nach LEE-WHITE um 25 % höher als die nach BORKER. Dies erklärt die geringe Kontaktfläche zum atmosphärischen Sauerstoff und die fehlende Durchmischung des Gerinnungsansatzes. Neben der unterschiedlichen Definition der Gerinnungszeit ist auch der Gerinnungsstatus anders festgelegt: im BORKER-Test die Bildung des ersten Fibrinfadens; nach LEE-WHITE die vollständige Gerinnung des gesamten Ansatzes.

Probe Nr.	1	2	3	4	5	$\bar{m}$ 1-5	6	7	8
SGZ s	184	191	186,5	188	192,5	188,4	178	152	216,5
Δm s	-4,4	+3,6	-1,9	-0,4	+4,1	0	-10,4	-36,4	+28,1
Alter min	2	5	10	20	25	/	30	32	35

Tab. 13 Spontangerinnungszeit in Abhängigkeit vom Probenalter

Die Tabelle zeigt, daß mit der Spontangerinnungsmethode verlässliche Werte bis zu 25 Minuten nach der Probenentnahme zu erhalten sind.

Eine weitere Methode, die sich als Spontangerinnungsverfahren durchführen läßt, die Thrombelastographie nach HARTERT, ist zur Untersuchung von Blutkontaktmaterialien vorgeschlagen worden (39). Der Thrombelastograph besteht aus zwei konzentrisch ineinander sitzenden Zylindern aus rostfreiem Stahl, deren Zwischenraum ca. 150 μ l Blut enthält. Der äußere Zylinder oszilliert um 4°; gerinnt das Blut, bilden die Fibrinfäden eine Verbindung zum inneren Zylinder, der an einem Torsionsdraht aufgehängt, nun auch zu oszillieren beginnt. Die Schwingungen des inneren Zylinders werden über einen Lichtstrahl und Spiegel photokymographisch registriert. Die Einhüllende der Schwingungen stellt das Thrombelastogramm dar.

Um diese Methode kritisch zu prüfen, wurde im Vergleich zu einem laufenden in vivo Versuch ein Thrombelastogramm bei FeOPc/PUR beschichtetem Innenzylinder aufgenommen. Wegen der Gefahr, den äußeren Zylinder zu beschädigen, blieb dieser unbeschichtet. Nachdem

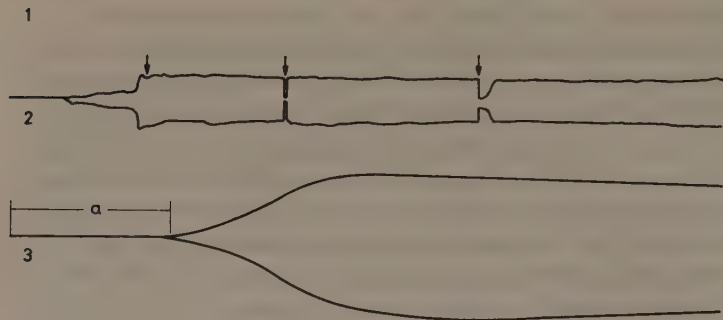


Abb. 26 Thrombelastogramme mit rekalkifiziertem Versuchstiercitratblut

1) nicht rekalkifiziertes Blut

2) rekalkifiziertes Blut an Polyurethan/Eisenphthalocyanin beschichteter Innenküvette

3) rekalkifiziertes Blut in unbehandelter Stahlküvette

Nicht rekalkifiziertes Blut gerinnt über einen langen Zeitraum nicht. An dem beschichteten PUR ist die Fibrinbildung gestört: weiche Thromben, die sich von der Wand losreißen (Pfeil). Das Blut in der Stahlküvette zeigt das erwartete Verhalten, und führt nach kurzer Zeit zu einem festen Thrombus.

durch Aufnahme der Thrombozytenvolumenhäufigkeitsverteilungskurve sichergestellt war, daß das Blut des Versuchshundes im Normalbereich lag, wurden folgende Thrombelastogramme registriert (vgl. Abb. 26): 1. nicht rekalkifiziertes Versuchstierblut in unbehandeltes V_2A -Stahlküvette, 2. rekalkifiziertes Versuchstierblut in mit FeOPc/PUR beschichtetem Innenzylinder, 3. rekalkifiziertes Blut in unbehandelter Stahlküvette. Die Kurven 1 und 3 zeigen das erwartete Verhalten: nicht rekalkifiziertes Blut gerinnt über Stunden nicht, rekalkifiziertes Blut gerinnt nach einer für V_2A -Stahl charakteristischen Zeit, entsprechend der Strecke a, und führt, gekennzeichnet durch eine große Amplitude, zu einem sehr festen Thrombus. Die Kurve des FeOPc beschichteten Copolyesterurethans läßt sich durch Störung der Fibrinhaftung an der Oberfläche oder des Fibrinaufbaus deuten. Die Graphik 2 zeigt weiche Thromben, die sich gelegentlich von der Wand losreißen (Pfeil).

Die Thrombelastographie liefert keine über die Messung der SGZ herausführenden Informationen. Dies sei an folgender Überlegung veranschaulicht: bei jedem in vitro, selbst an einer ideal thromboresistenten Oberfläche, durchgeführten Gerinnungstest koaguliert die Probe durch den Einfluß der Phasengrenze Luft-Blut oder durch Stagnation nach einer bestimmten für die Methode charakteristischen Zeit. Demnach läßt sich mit jedem dieser Verfahren nur feststellen, ob die Oberfläche zusätzlich zur Aktivierung des Gerinnungssystems beiträgt. Voraussetzung ist, daß die untersuchte Oberfläche keine Substanzen enthält (z. B. Heparin), die ausreichen, um die in der Probenmenge befindlichen gerinnungsaktiven Substanzen zu zerstören. So würde beispielsweise beim LEE-WHITE-Test an einer ideal thromboresistenten Oberfläche das Blut durch Stagnationsthromben von der Mitte des Proberöhrchens heraus gerinnen; die Gerinnung wäre abgeschlossen, wenn sich der Thrombus so weit ausgebreitet hat, daß er die Röhrchenwände erreicht. Die Übertragung dieses Gedankenversuches auf die Thrombelastographie führt zu dem Schluß, daß gerade bei der Untersuchung blutverträglicher Oberflächen die für die normale klinische Anwendung gegebene Verknüpfung zwischen hämorrhagischer Diathese und den elastischen Eigenschaften des Fibringerinnsels nicht mehr besteht. Nur bei der üblichen klinischen Untersuchung setzt die Fibrinbildung, wie das durchgeführte Experiment beweist, mit Sicherheit an der Wand der Stahlküvette ein. Zusammenfassend ergibt die Diskussion, daß die Messung der SGZ nach BORKER die am besten geeignete Methode zur Untersuchung thromboresistenter Werkstoffe darstellt. Um die SGZ an möglichst vielen Blutproben gleichzeitig bestimmen zu können, wurde ein hierfür geeignetes Koagulometer entwickelt. Nach Vorversuchen ergab sich, daß die günstigste Bewegung des Häkchens senkrecht zur Häkchenebene durch die Blutprobe führt. Die Feststellung des Gerinnungseintritts erfolgt elektrisch über den Widerstand des ersten Fibrinfädchens. Die Arbeitsweise des Gerätes läßt sich der Prinzipskizze (Abb. 27) entnehmen.

Durch Höhenverstellung der Lagerleiste lassen sich unterschiedliche Häkchenwege von ellipsenförmig bis kreisförmig einstellen. Als vorteilhafteste Kurvenform zeigt sich in den Versuchen eine mit ihrer

Brennebene in der Hackchenlangsrichtung liegende Ellipse. Durch einen Reibradmotor ist das Hackelintervall von 0,5 bis 20 s regelbar, wobei das Optimum zwischen Reproduzierbarkeit und Genauigkeit für Gerinnungszeiten unter 5 min bei 2 s und über 5 min bei 5-6 s liegt. Die Blutproben befinden sich auf ebenen oder mit Hohlschliffen versehenen Objektträgern, die sich leicht mit dem zu untersuchenden Material beschichten lassen. Eine mit Folienheizelementen ausgestattete Objekttragergrundplatte erwärmt die Proben auf $37^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{ C}$. Die Objekt-

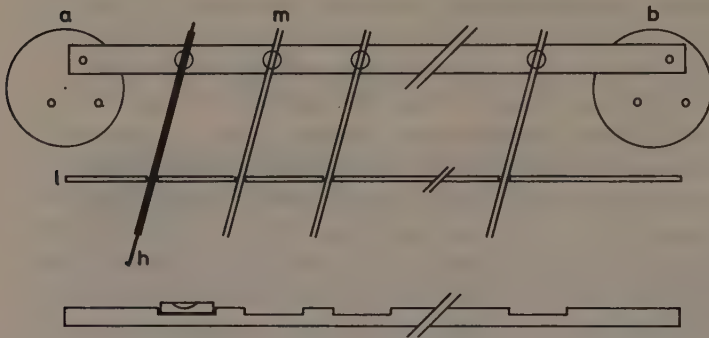


Abb..27 Prinzipskizze des für Polymeruntersuchungen entwickelten Koagulometers
Im Gegensatz zu kommerziellen Geräten wird der Haken sehr langsam durch die Probe gezogen, wodurch sich durch Hämolyse bedingte Störungen vermeiden lassen. Wegen der zeitlich begrenzten Verwendbarkeit von Nativblutproben ist eine hohe (15) Zahl von Meßplätzen vorgesehen.

tragergrundplatte ist mit eingefrastten Furchen versehen, die mit physiologischer NaCl-Lösung in Verbindung mit einer Methacrylglasabdeckung eine sog. "feuchte Kammer" für die Gerinnungsansatze bilden. Die Gerinnungszeiten der einzelnen Proben werden elektronisch gespeichert und lassen sich entweder über einen Drucker oder das digitale Anzeigeinstrument abfragen.

Die an den verschiedenen Polymeroberflächen bestimmten Meßwerte sind

in den Tab. 7-9 zusammengefaßt. Darüber hinaus werden mit dem Koagulometer zunächst die Meßgrenzen festgelegt und anschließend die Thromboresistenz von Graphitschichten verschiedener Leitfähigkeit und Oberflächenarchitektur bestimmt.

Die maximale Häkelzeit, die noch zu sinnvollen Meßergebnissen führt, wurde durch folgenden Versuch definiert. Einem Versuchstier wird ein 2 cm langes Stück Femoralvene entnommen und nach einem Längsschnitt mit Nadeln auf einem ständig mit Ringerlösung feucht gehaltenen flachen Schwämmchen aufgespannt. Die SGZ mit nativem Versuchstierblut ergibt sich zu 61,6 min. Da es sich hier um optimale Versuchsbedingungen handelt, liefern die SGZ über 60 Minuten im Koagulometer keine interpretierbaren Ergebnisse.

Die Abhängigkeit der SGZ von der Leitfähigkeit wurde an graphitbeschichteten Objektträgern geprüft. Durch Aufspritzen einer Suspension von 10 ml kolloidem Graphit (DAG 154) in 90 ml Isopropanol erhalten die Objektträger Widerstände von $320\text{ k}\Omega$ (1 Schicht), $86\text{ k}\Omega$ (2 Schichten), $10,6\text{ k}\Omega$ (4 Schichten) und $4,5\text{ k}\Omega$ (8 Schichten). Die SGZ von 17,3; 18,1; 18,2; 18,0 min in der Reihenfolge fallender Widerstände zeigen, daß die Messungen auch bei unterschiedlichen Leitfähigkeiten zu reproduzierbaren Ergebnissen führen. Die Meßwerte sind indifferent bezogen auf Glas.

In einem weiteren Versuch wurde geprüft, welchen Einfluß der Kunststoffbinder (Cellulose) in DAG 154 und die Oberflächenstruktur des Graphits auf die Gerinnung haben. Tauchen eines Objektträgers in durch Ultraschallzerstäubung in Isopropanol in den kolloidalen Zustand überführten reinen Graphit, Merck Art. Nr. 4206, führt ebenfalls zu einer zusammenhängenden Schicht. Der Widerstand ergibt sich zu $5,6\text{ k}\Omega$, die SGZ zu 28,4 min. Das Ergebnis entspricht nach den Untersuchungen an Polymeren dem Verhalten einer unkontaminierten Oberfläche.

Partielle Oxidation von Graphit (V. 69) führt zu einer Vergrößerung des spezifischen Widerstands (Tab. 6) durch teilweise Bindung der

pro C-Atom freien Valenzelektronen und durch Störung der Konjugation der übrigen π -Elektronen. Die SGZ nimmt mit 16,2 min durch diese Behandlung deutlich ab. Die Beobachtung stimmt mit den Ergebnissen von BOKROS et al. (19) überein, die für PYC eine Verschlechterung der thromboresistenten Eigenschaften fanden. Die von BOKROS et al. gewählte Bezeichnung "Chemisorption von O_2 " für die durchgeführte Oxidation ist irreführend und hat nichts mit der reversiblen O_2 -Adsorption am PYC und an den Phthalocyaninen bei der Elektrokatalyse zu tun. Die Sauerstoffbehandlung des Graphits bei hohen Temperaturen ist irreversibel und führt je nach den Reaktionsbedingungen über Hydroxyl-Carbonyl- und Carboxylgruppen an den Schichträndern schließlich zum Graphitoxid C_2O , einer grauweißen Verbindung, die den elektrischen Strom nicht leitet und keinerlei elektrokatalytische Aktivität hat.

3. In vivo Untersuchung der Thromboresistenz am System FeOPc ESTANE mit einem neuen Testverfahren und Vergleich zum GOTT-Test

Der Vena cava Ring-Test nach GOTT et al. (11) ist das bisher am häufigsten angewandte Verfahren zur Beurteilung thromboresistenter Materialien. Die Operation wird seit zwölf Jahren durchgeführt, und fast alle für die Anwendung im vaskulären System entwickelten Materialien sind nach dieser Methode auf ihre potentielle Thromboresistenz untersucht worden.

Als Versuchstiere werden 7 bis 10 kg schwere Hunde intravenös durch PENTOBARBITAL (25 bis 30 mg/kg) anästhesiert und mechanisch beatmet. Unter aseptischen Bedingungen werden das rechte Atrium, die Vena cava superior und die Vena cava inferior durch den rechten fünften Interkostalraum freipräpariert. Die Vena azygos wird abgebunden und eine Tabaksbeutelnaht in die rechte Vorhofwand gelegt. Die Hohlvenen werden mit je einem Tourniquet so weit als möglich vom rechten Vorhof entfernt versehen (vgl. Abb. 28). Während eines kurzen Zuflusses mit Hilfe der Tourniquets wird nun der Ring ($d = 8 \text{ mm}$, $l = 10 \text{ mm}$,

w = 0,5 mm) nach einem Vorhofschnitt innerhalb der Tabaksbeutelnaht durch ein Edelstahlröhrchen, das sorgfältig genau in den Eingang der Vene geführt ist, in die Vena cava inferior geschoben. Die Benutzung des Führungsröhrchens erleichtert die Einführung und verhindert eine



Abb. 28 Operationssitus beim GOTT-Test

Die Abb. zeigt die Technik des Einführens des Proberöhrchens während eines Zuflußstaus der Vena cava superior und inferior.

Kontamination des Rings mit Gewebsthrombokinasen vom Rand des Vorhofschnittes. Nachdem der Ring durch Melkbewegungen seine endgültige Lage genau oberhalb des Zwerchfells erreicht hat, wird eine 3-0 Ligatur um die Vene geführt, um den Ring in dieser Lage zu fixieren. Nun wird ein Wickel aus gewebtem prothetischen Material (TEFLON, DACRON etc.) so von außen um Ring und Vene gelegt, daß sich keine Sackgasse für das Blut zwischen der Außenseite des Ringes und der Innenseite des Gefäßes bilden kann.

Die von GOTT et al. benutzte Terminologie zur Beurteilung und Charak-

terisierung der Testergebnisse wurde als Hilfsmittel zur Bewertung der bisherigen Entwicklungen blutverträglicher Materialien bereits vorweggenommen (vgl. B. 3 und Abb. 8).

Die in der vorliegenden Arbeit entwickelten Materialien sollten zunächst ebenfalls nach dem GOTT-Test auf ihre thromboresistenten Eigenschaften untersucht werden. Aus pekuniären Erwägungen erschien die Verwendung von Hasen gegenüber Hunden als vorteilhafter. In den ersten Versuchen mit Ringen der von GOTT empfohlenen Abmessungen, die zur einfachen Ausführung der Stromlinienform der Anfangs- und Endkanten unter der FeOPc/PUR-Schicht einen Formkörper aus einer Aluminiumlegierung enthielten, ergab sich, daß diese Ringe für Hasen zu groß sind. Diese Feststellung machte die Entwicklung einer neuen Technik zur Herstellung der Prüfröhrchen erforderlich.

Ein Glasrohr mit dem Innendurchmesser $d_i = 4,5 \text{ mm}$ und der Länge $l = 300 \text{ mm}$ steckt mit Hilfe zweier doppelt durchbohrter flacher Gummistopfen zur Thermostatisierung so in einem weiten Glasrohr, $d_i = 30 \text{ mm}$; $l = 200 \text{ mm}$, daß beide Enden 50 mm aus dem Thermostatisierungsmantel herausragen. Mit einer 50 ml fassenden Plastikspritze und einem Siliconschlauch wird eine $15 \text{ \%}$ -ige Lösung von ESTANE 5707 F 1 in THF in dem inneren Glasrohr exakt bis zum Ende des Rohres hochgesogen. Die Polymerlösung läuft nach Entfernen der Spritze frei ab. Das untere Ende des Innenrohres wird 2 mm tief in ein Becherglas mit reinem THF getaucht und ein Luftstrom von 3 Blasen/s durch das Rohr geführt. Nach fünf Minuten wird die Vorlage entfernt und bei gleichem Luftstrom weitere 10 min Lösungsmittel abtransportiert. Nach 15 min Thermostatisierung bei 60° C ist die Bildung der ersten Schicht abgeschlossen. Das Rohr wird nun gedreht und der Vorgang wiederholt. Vier Schichten ergeben die gewünschte Wandstärke von $0,3 \text{ mm}$. Nach einstündigem Tempern bei 80° C im Trockenschrank läßt sich der entstandene PUR-Schlauch unter fließendem Wasser aus der Glasröhre entfernen.

Die durch die Schwerkraft vorgegebene Abflußrichtung der Polymerlösung und die Luftströmung in gleicher Richtung bewirkt eine bevor-

zugte Orientierung der Polymerketten in der Längsrichtung der Glasröhre. Die sterische Anordnung läßt sich experimentell durch Aufnahme der Spannungs-Dehnungskurve belegen. In der Querrichtung ist bei gleicher Kraft die Elongation um 25 % höher als in der Längsrichtung. In der Längsrichtung sind die linearen Makromoleküle praktisch miteinander verzahnt, in der Querrichtung im wesentlichen nur durch die beschriebenen Wasserstoffbrückenbindungen fixiert.

Die implantierbaren Röhrchen entstehen durch Schneiden auf die Länge $l = 8 \text{ mm}$ mit Hilfe eines Skalpells unter Verzicht auf die stromlinienförmige Ausführung der Anfangs- und Endkanten. Die Beschichtung mit FeOPc erfolgt nach den G. 13, 14, 15 entsprechend dem Versuch 77. Bereits nach den ersten Versuchen erwies sich der GOTT-Test aus einer Reihe von Nachteilen, insbesondere aber wegen der willkürlichen Beurteilung der Thromboresistenz nach einer Versuchsdauer von zwei Stunden, als verbesserungsbedürftig.

In Zusammenarbeit mit der Abteilung für klinisch-experimentelle Chirurgie der Universität des Saarlandes wurde ein Versuchsmodell erarbeitet, das die Untersuchung phthalocyaninbehandelter und unbehandelter Materialien am gleichen Versuchstier gestattet. Als Prüfgefäße dienen die Femoralvenen. Wegen der geringen Größe dieser Venen bei Hasen erfolgen die Untersuchungen an Hunden, mit dem Vorteil, daß die Gerinnungsphysiologie des Hundes der des Menschen weitgehend entspricht.

An Bastardhunden ohne Rassen- und Geschlechtsauswahl mit Gewichten zwischen 12 und 30 kg wurden nach Narkoseeinleitung mit PENTOTHAL i. v., ca. 30 mg/kg, endotrachealer Intubation und Allgemeinanästhesie mit Halothan, 0,8-1,5 Vol %, bei ca. 2·l Sauerstoff pro min in Rückenlage beide Femoralvenen auf einer Strecke von 5-7 cm freigelegt. Durch eine längsgerichtete Venotomie wurde bei jedem Hund auf einer Seite ein FeOPc-beschichtetes auf der anderen Seite ein unbeschichtetes PUR-Kontrollröhrchen eingeführt. Die Schnitte wurden durch fortlaufende Gefäßnähte verschlossen. Durch die gewählte Dimensionierung des Röhrchens klemmten sie in den etwas engeren aber

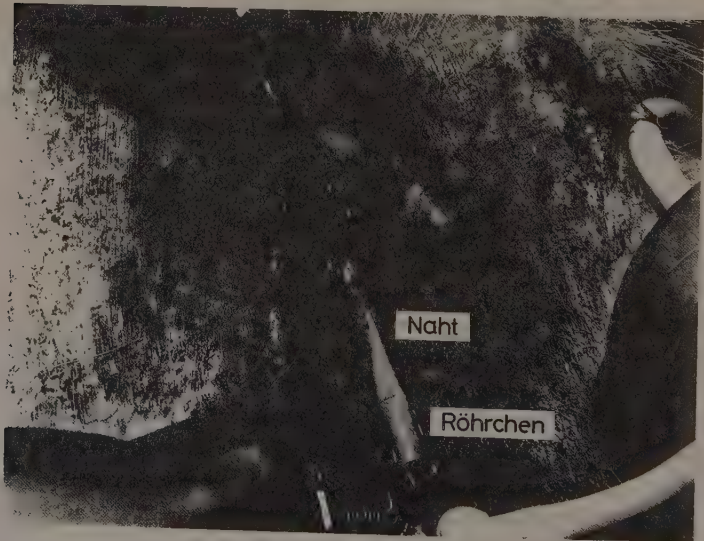
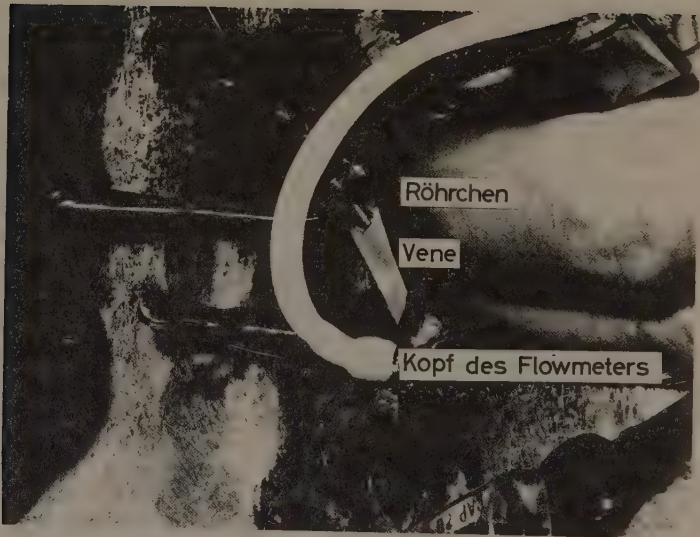


Abb. 29 Operationssitus beim Femoralvenentest
 In der Abb. ist das Einklemmen des Proberöhrchens durch die Vene gut zu erkennen.

elastischen Blutgefäßen, so daß sich eine Fixierung erübrigte (vgl. Abb. 29). Bei thrombotischer Einengung oder Verschuß eines Röhrchens war zu erwarten, daß der Druck im Zuflußgebiet der Vene ansteigen und gleichzeitig das Flußvolumen durch den Querschnitt abnehmen bzw. den Wert Null erreichen würde. Bei den ersten drei Versuchen wurden die Drucke in distalen Nebenästen der Vene über PVC-Katheter von 0,05 mm lichter Weite gemessen. Diese Katheter mußten durch kontinuierliche Einspülung von Ringerlösung, 6 ml/h, offen gehalten werden. Die schematische Darstellung dieser Versuche findet sich im oberen Teil der Abb. 30.

Die in den weiteren Versuchen durchgeführte Messung des Venenflusses mittels elektromagnetischer Flowmeter bietet den Vorteil, daß bei vereinfachter Operation Beeinträchtigungen des Gerinnungsablaufs durch die Meßsysteme ausgeschlossen bleiben. Im unteren Teil der Abb. 30 ist eines der Flußkurvenpaare schematisch wiedergegeben. Die Kurven beginnen mit der Eichung für das rechte und das linke Bein. Der Operationsbeginn durch Abklemmen des Gefäßes ist durch den Flußwert Null gekennzeichnet. Nach Gefäßfreigabe am Ende der Operation schnellt der Fluß durch den eingriffbedingten Stau weit über seinen Normalwert hinaus. Die Operationsdauern lagen bei allen Versuchen zwischen drei und fünf Minuten. Der Fluß stabilisiert sich im Verlauf einer Minute auf einen Wert nahe demjenigen vor Operationsbeginn. Beim unbehandelten Röhrchen zeigt sich bald ein Stau durch Einengung des Röhrchenlumens, also durch partielle Thrombose; der dadurch bewirkte Druckanstieg liefert die Energie zur Ablösung des entstandenen Mikrothrombus. Dieses Phänomen ist manchmal auch bei vollständigem Verschuß zu beobachten (punktierter Verlauf eines Versuchs in Abb. 30), wenn sich der Thrombus noch nicht genügend wandständig verfestigt hat. Hierbei bleibt jedoch meist eine teilweise Thrombose bestehen, so daß nach kurzer Zeit der irreversible Verschuß des unbehandelten Röhrchens erfolgt. Die Kurve des FeOPc-behandelten Röhrchens verläuft nach der Freigabe des Gefäßes ruhig unter dem natürlichen Venenfluß; Anzeichen einer thrombotischen Ablagerung sind nicht zu beobachten. Die maximale Versuchsdauer ist in einigen Versuchen länger als acht Stunden.

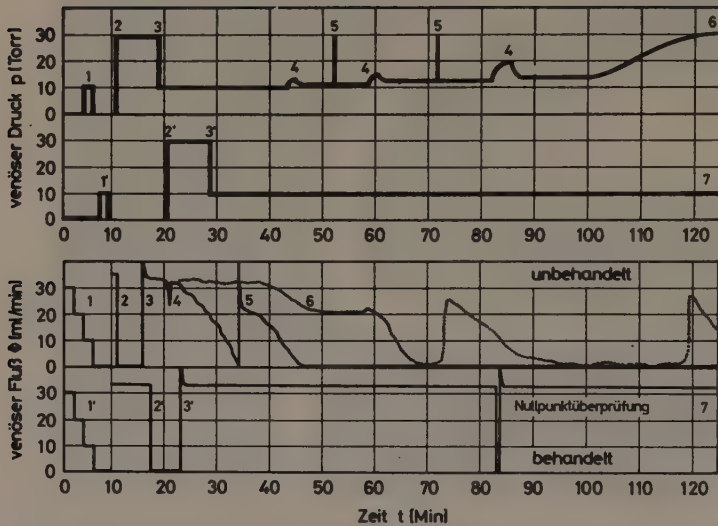


Abb. 30 Druck- (oben) und Flußkurven beim Femoralvenentest. 1, 1' Druck- bzw. Flußbezeichnung für den rechten und linken Katheter bzw. Flowkopf; 2, 2' Operationsbeginn nach Abklemmen des Gefäßes; 3, 3' Freigabe des Gefäßes; 3-2 bzw. 3'-2' Operationsdauer; 4 Mikrothrombenbildung; 5 Prüfung der Durchgängigkeit des Röhrchens durch Abklemmen des Gefäßes; 6 irreversibler Verschuß des unbehandelten Röhrchens; 7 die Kurve des behandelten Röhrchens verläuft flach im Bereich des natürlichen Venendruckes bzw. Flusses, Anzeichen von Thrombenbildungen sind nicht zu beobachten. Der gestrichelte Verlauf in der Flußkurvendarstellung zeigt das Verhalten eines unbehandelten Röhrchens, das nach dem GOTT-Test als thromboresistent eingestuft worden wäre.

Der beschriebene Femoralvenentest weist gegenüber dem GOTT-Test folgende Vorteile auf:

- einfache Operation
- geringes Trauma - dadurch geringe Beeinflussung des Gerinnungsstatus (Die beim GOTT-Test notwendige Thorakotomie greift in das Gerinnungssystem ein; eine anfängliche Erhöhung der Gerinnungsaktivität führt durch Verbrauchskoagulopathie zur länger andauernden Verringerung der hämostatischen Wirkung des Koagulationssystems.)

- Einsparung von Zeit und Mitteln - da sich zwei Versuche in einem durchführen lassen.
- objektive Dokumentation der Ereignisse, die mit Thrombose und Thrombolyse zusammenhängen, in exakter Relation zur Zeit - einen anschaulichen Beweis der Notwendigkeit dieser Forderung für einen akzeptablen in vivo Test zeigt der in Abb. 30 gestrichelt eingezeichnete Versuchsverlauf. Bei der Prüfung nach zwei Stunden im GOTT-Test würde ein fast thrombenfreies Röhrchen begutachtet. Die Dokumentation beweist, daß sich bereits ein okkludierender Thrombus gebildet hatte und der irreversible Verschluß kurze Zeit später eintritt.
- Anwendbarkeit gepaarter statistischer Tests - d. h. exakter Vergleich zweier Materialien unter identischen biologischen Bedingungen in einem Versuchstier.

Schließlich ergibt sich im chronischen Test ein weiterer Vorteil, da das Versuchstier durch Ausbildung von Kollateralen selbst beim thrombotischen Verschluß einer oder beider Femoralvenen überlebt, während die vollständige Stenose der Vena cava zum unmittelbaren Tod führt.

In drei von elf Versuchen wurden auch die FeOPc-beschichteten Röhrchen schließlich thrombotisch verschlossen; in einem Fall sogar früher als das unbeschichtete.

Die aufgrund der Versuchsanlage möglichen statistischen Auswertungen erfolgen nach zwei Verfahren und erlauben die vorangestellte grobe Beurteilung genauer zu spezifizieren. Die Methode der Sequentialanalyse nach BROSS (40), die, speziell zum Vergleich von Paardifferenzen entwickelt, vom Anwender nur die Vorgabe der Irrtumswahrscheinlichkeit und keine weiteren Rechnungen verlangt, beweist nach 11 Versuchen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 5 % die Überlegenheit der mit FeOPc beschichteten Röhrchen. Bei der Aus-

wertung nach WILCOXON (41) für Paardifferenzen ergibt sich eine Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 1 %, da bei diesem Verfahren die Zeiten bis zum thrombotischen Verschluß des Röhrchens mit eingehen, wobei für vollständig offengebliebene Röhrchen die Versuchsdauer in Rechnung gesetzt wurde.

In der von GOTT eingeführten Terminologie ist nach diesem Ergebnis das mit FeOPc beschichtete Copolyesterurethan als mit ausgezeichneten thromboresistenten Eigenschaften ausgerüstet anzusehen. Darüber hinaus haben die Röhrchen im Femoralvenentest bei vergleichbarer Blutflußgeschwindigkeit ein um den Faktor 4 kleineres Lumen mit stumpfen Anfangs- und Endkanten. Die FeOPc/PUR-Röhrchen zeigen bei längeren Versuchsdauern bessere Thromboresistenz als die verträglichsten von GOTT et al. untersuchten für den Langzeiteinsatz entwickelten Materialien. Bemerkenswert ist ferner, daß die angegebene kovalente Verknüpfung mit FeOPc auch an Kunststoffen technischer Provenienz zu dem beschriebenen thromboresistenten Verhalten führt, Die Ursachen hierfür und die Zusammenhänge mit den elektrokatalytischen Eigenschaften des Metallchelats finden sich in der abschließenden Diskussion.

F. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Alle Bestandteile des Gerinnungssystems (Thrombozyten, Eiweißkörper, Venen- und Arterienwände) weisen im intakten Zustand negative Oberflächenladungen auf. Analog den Verhältnissen an kolloiden Elektrolyten, die wegen ihrer gleichsinnigen Ladungen stabil in Lösung bleiben, behindern elektrostatische Kräfte den gegenseitigen Kontakt der zur Gerinnung notwendigen Faktoren. Durch das Strömen des Blutes und den ständigen Auf- und Abbau der biologischen Substanzen läßt sich die natürliche Thromboresistenz nur als dynamischer Vorgang verstehen. Das Langzeitversagen der Elektrete, der sulfonierten bzw. carboxylierten Kunststoffe und der Heparin enthaltenden Polymeren durch Abschirmung der fixierten elektrischen Ladungen unterstreicht die Notwendigkeit der aktiven Beteiligung der künstlichen Oberflächen zur Erzielung thromboresistenter Eigenschaften.

Die aktuelle Höhe des an der Oberfläche gegenüber dem Blut resultierenden Potentials ist von untergeordneter Bedeutung. Beweise hierfür sind die thromboresistenten Eigenschaften des positiv geladenen IOPLEX 101, des pyrolytischen Kohlenstoffs und des mit FePc beschichteten PYC. Allen permanent thromboresistenten Materialien gemeinsam ist die Fähigkeit zur Katalyse oder zum Ablauf kathodischer Reaktionen. Dies gilt auch für in vivo Versuche, bei denen das Implantat mit Hilfe einer Spannungsquelle negativ polarisiert wird. In allen Versuchen bleiben die Röhrchen vollständig thrombenfrei, wobei das verwendete Elektrodenmaterial (Platin, Kupfer, Graphit) und dessen Stellung in der Spannungsreihe bedeutungslos ist. Die winzigen Thromben bei den Versuchen von GOTT et al. (vgl. Abb. 8) lassen sich durch eine Beschädigung der Graphitschicht erklären. Nachdem sich in keiner Untersuchung eine kathodische Wasserstoffentwicklung beobachten ließ, ist anzunehmen, daß als kathodische Reaktion die Sauerstoffreduktion abläuft.

Pyrolytischer Kohlenstoff und die verschiedenen Eisenphthalocyanine sind Katalysatoren der kathodischen Sauerstoffreduktion, die die

Einstellung des Adsorptionsgleichgewichts beschleunigen. Das bedeutet im vorliegenden Fall, daß die Reaktion nach G. 9 (S.S. 63) mit hoher Austauschstromdichte reversibel abläuft. Zur Reduktion des Sauerstoffs kommt es nicht, weil die elektronenliefernde anodische Teilreaktion an den Katalysatoren Hemmungen unterliegt. Auf diese Weise ist die Oberfläche dynamischen Ad- und Desorptionsreaktionen ausgesetzt, die statische Veränderungen wie etwa die wandständige Thrombenbildung unmöglich macht.

An dem in Abb. 31 dargestellten Modell der Eisenphthalocyanin-Polyurethanoberfläche lassen sich weitere thromboresistente Eigenschaften diskutieren. Durch die sterisch günstige Lage der Verknüpfungsstellen auf der Polymermatrix sind mehrere Bindungen zum oligomeren Eisenphthalocyanin möglich, wodurch sich der vollständig eben gebaute Metallkomplex mit den makrozyklischen Ebenen parallel zur Polymeroberfläche orientiert. Demnach ist auch die Elektronenwolke der delokalisierten P_z -Orbitale mit ihrer maximalen Ausdehnung zur Blutseite gerichtet. Hier fällt die Analogie zum pyrolytischen Kohlenstoff auf, bei dem sich laminierte Strukturen mit einem höheren Oberflächenanteil der Sechsringebenen thromboresistenter als isotrope Modifikationen erwiesen. Die Wirkung dieser negativen Raumladungswolke greift durch die Ad- und Desorptionsvorgänge des Sauerstoffs tief in den Blutraum ein. Im adsorbierten Zustand ist der Sauerstoff durch $p\pi-d\pi$ -Beziehungen mit den d-Orbitalen des Eisens an der Elektronendelokalisation beteiligt, wobei das Sauerstoffmolekül senkrecht auf der Ebene des Metallchelats steht. Die höchste Elektronenkonzentration ergibt sich dabei an dem vom Eisen weiter entfernten Sauerstoffatom, da bei der Redoxkatalyse an dieser Stelle primäre Protonierung eintritt. Für den günstigsten Fall, daß die Verteilung der Urethan-NH-Gruppen die Beteiligung des einsamen Elektronenpaares des Stickstoffs als LEWIS-Base an der sechsten Koordinationsstelle des Eisenzentralatoms ermöglicht, wird die Elektronendelokalisation unterstützt. Dies folgt aus der Tatsache, daß die auf basischen Rußsorten ausgefällten Eisenphthalocyanine die Sauerstoffreduktion stärker katalysieren als die Ausfällungen auf neutralem oder saurem Ruß.

Auch im Häm des Hämoglobins befindet sich ein einsames Stickstoffelektronenpaar an der sechsten Koordinationsstelle des Eisens, die fünfte Koordinationsstelle besetzt Sauerstoff, Kohlendioxid oder Wasser. Dieses Stickstoffatom gehört dem Imidazolring an. Aufgrund der Elektrokapillarmessungen an Histidin und Tryptophan und des hohen



Abb. 31 Schematische Darstellung der kovalenten Bindung eines oligomeren Metall-Phthalocyanins an der Oberfläche eines Polyurethans. Durch Ausbildung mehrerer Verknüpfungsstellen mit der Polymermatrix wird das vollständig ebene Phthalocyanin zwangsläufig mit seiner maximalen π -Elektronenausdehnung zur Blutseite orientiert. Die katalytische Aktivität kann dabei durch Bindungsbeziehungen der Metallzentralatome zu den Urethan-NH-Gruppen gesteigert werden.

Gehalts von Tryptophan in Fibrinogen ist anzunehmen, daß sich neben Sauerstoff auch Fibrinogen an reversiblen Adsorptionsvorgängen am Eisenphthalocyanin beteiligt. Unter Berücksichtigung der negativen Ladung des Fibrinogens spricht das im Blutkontakt zu negativen Werten verschobene Ruhepotential für diesen Mechanismus.

Durch die reversible Adsorption des Fibrinogens am Phthalocyanin er-

hält die damit ausgerüstete Oberfläche eine dem lebenden Organismus ähnliche Thromboresistenz, da auch hier eine Wechselwirkung mit den Thrombozyten verhindert wird. Wie die Ergebnisse an bestimmten Polyurethanen, Polyamiden und Copolymeren aus 65 % Polytrifluorpropylmethyilsiloxan mit 35 % Polydimethylsiloxan, die nur kurz nach der Implantation thromboresistente Eigenschaften besitzen, zeigen, erfordert die reversible, ohne konformative Änderungen begleitete Fibrinogenadsorption einen ständigen Wechsel zwischen hydrophilen und hydrophoben Oberflächenplätzen. Im Eisenphthalocyanin ist dieser Wechsel durch die hydrophoben Benzolringe mit hydrophilen Komponenten (Stickstoffatome, Eisen) gegeben.

Ähnliche Oberflächeneigenschaften weist pyrolytischer Kohlenstoff auf. Während sich die Sechsringebenen hydrophob verhalten, erscheinen die Kristallitkanten und Fehlstellen durch Inkorporation von polaren Gruppen hydrophil. Die Proteinbindestellen sind am pyrolytischen Kohlenstoff die polaren Gruppen, daher verhalten sich Modifikationen kleiner Kristallitgrößen thromboresistenter als diejenigen, die sich aus größeren Kristallen zusammensetzen.

G. EXPERIMENTELLE DATEN

Alle angegebenen Schmelz- und Siedepunkte sind unkorrigiert.

Zur Aufnahme der IR-Spektren diente ein BECKMAN IR 33 Spektral-photometer mit optischem Nullabgleich.

Die UV-Absorptionen wurden mit einem UV-Spektrometer SP 800 der Firma LEITZ aufgenommen.

Die Massenspektren entstanden mit Hilfe eines MAT CH-4 B Massenspektrometers der Firma VARIAN.

Für die Durchführung der CHN-Analysen mit dem CHN-Mikroanalysator nach MONAR der Firma HERAEUS bin ich Herrn Zankl zu Dank verbunden.

Alle Arbeiten unter Luft und Feuchtigkeitsausschluß wurden unter zusätzlich über Silicagel geleitetem, nachgereinigtem Stickstoff der Firma LINDE ausgeführt.

Arbeiten bei Temperaturen über 200° C wurden in einem geregelten Metallbad ausgeführt. Der hierzu konstruierte Regler besteht aus zwei durch ein Kontaktthermometer gesteuerten Diacs. Durch geeignete Leistungseinstellung läßt sich die Temperatur auf $\pm 10^\circ \text{C}$ konstant halten.

Den Saalassistenten und den Studenten der Organischen Institute I und II möchte ich für die Unterstützung und Hilfe bei der Darstellung und Aufarbeitung einiger Phthalocyanine danken.

Versuch 1 Thrombozyten, Fibrinogen

- a) Ringer Lösung: 9 g Natriumchlorid; 0,2 g Kaliumchlorid; 0,2 g Kalziumchlorid
0,1 g Natriumhydrogenkarbonat auf 1 l aufgefüllt.
- b) Siliconisierung: 2 %-ige Lösung von WACKER AR 500 in Tetrachlorkohlenstoff;
eingebrannt bei 300°C.
- c) Thrombozyten: Venenpunktion mit siliconisierter Kanüle Nr. 1, 2 ml verworfen,
2x5 ml in siliconisierte, 600 µl 3,8 %-ige Natriumcitratlösung
enthaltende Zentrifugengläser, 2 min bei 500 G zentrifugiert,
überstehende Thrombozyten mit PE-Pipettenspitze abpipettiert.
Besser: Hämostilette; Einstich 4 mm tief in die Fingerbeere,
Blut auf Paraffin MERCK Art. Nr. 7159 in feuchte Kammer einge-
bracht; nach 2 h Spontansedimentation Thrombozyten mit paraf-
finierten Glasstab auf das Präparat gebracht.
Geschädigte Thrombozyten: vor dem Aufbringen auf das Präparat
5 min Glaskontakt bei 37°C.
- d) Fibrinogen: 30 mg Fibrinogen (KABI) in 10 ml Ringerlösung bei 15 Torr in
siliconisiertem Schlenkrohr gelöst. Inkubation mit PE-Pipetten-
spitze. Aktiviertes Fibrinogen: 2 ml Fibrinogenlösung mit 200
µl 0,01 n Kaliumpermanganatlösung versetzt, nach 5 min mit
0,01 n Natriumoxalatlösung nach farblos titriert.
- e) Gefäßentnahme: Nach Abbinden cranial und caudal Entnahme von ca. 2 cm Femoral-
vene, Längsschnitt, Spülen mit Ringerlösung, Aufspannen mit
Stahlstiften auf einem hölzernen Objektträger.
- f) Mikroskop: LEITZ, Auflicht, Phasenkontrast, 480-fache Vergrößerung.
- g) Ergebnisse: mikroskopisch intakte Thrombozyten + Fibrinogen: über 30 min
keine beobachtbare Veränderung.
Thrombozyten unterschiedlicher Formen, mit deutlichen Pseudopo-
dien + Fibrinogen: innerhalb von 7 min weiterer Zerfall der
Thrombozyten und faserige Verklumpung.
Mikroskopisch intakte Thrombozyten + aktiviertes Fibrinogen:
innerhalb von 4,5 min Thrombozytenagglutination und faseriges
Verschmelzen.

Versuch 2 Hämin

500 ml einer unbrauchbar gewordenen, defibrinierten (10 min, 56°C), gefilterten
(Glasfilternutsche D 1) Citratblutkonserve fließen während 30 min in ein unter Rück-
fluß siedendes Gemisch von 1 l Eisessig und 5 ml gesättigter Natriumchloridlösung in
einen mit Dimrothkühler, Tropftrichter und Thermometer ausgerüsteten 2 l Dreihals-
kolben ein. Nach Erkalten auf 40°C wird abgesaugt (D 2) und mit verdünnter Essigsäu-
re, Wasser, Äthanol und Diäthyläther gewaschen. Ausbeute 1,2 g.

C ₃₄	H ₃₂	N ₄	O ₄	Fe	Cl	Ber. C 62,64	H 4,95	N 8,59	MG 652,29
						Gef. C 61,27	H 4,51	N 8,34	IR (KBr) Nr. 1 Abb. 14

Versuch 3 2-Propin-1-al

Ein mit Tropftrichter, Gaseinleitungsrohr (D 2) und 3 hintereinandergeschalteten auf
-80°C gekühlten Kühlfallen ausgerüsteter, mit einer Eis-Kochsalzmischung gekühlter
1 l Dreihalskolben wird mit 40 ml Propargylalkohol und einer abgekühlten Mischung
aus 45 ml konz. Schwefelsäure und 280 ml Wasser beschickt. Während eines mit dem Gas-
einleitungsrohr und der Wasserstrahlpumpe auf ca. 30 Torr regulierten Vakuums tropft
im Verlauf von 2 h eine Lösung von 70 g Chromsäure in 100 ml Wasser und 45 ml konz.
Schwefelsäure zu. Nach dem Erwärmen auf 30°C destilliert bei 12 Torr der restliche
in der Reaktionslösung befindliche Aldehyd in die Kühlfallen. Der Inhalt der Fallen
wird über eine WIDMER-Spirale fraktioniert. Kp: 53-55°C. Ausbeute: 16,3 g (44 %).

C ₃ H ₂ O	IR (VC) 3270, 2880, 2090, 1665, 1640, 1385, 945	MG 54,05
---------------------------------	---	----------

Versuch 4 5.14-Dihydrodibenzo (b.i.) (5.9.14.18) tetraaza (14) annulen

Zu 22 g o-Phenylendiamin in 200 ml DMF wird eine 50 %-ige Lösung von 11 g Propargyl-
aldehyd in DMF so zugetropft, daß die Mischung gerade schwach siedet. Danach wird ei-
ne weitere Stunde unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur er-
folgt Absaugen (D 3), Waschen mit Methanol und Umkristallisieren aus DMF/Aktivkohle.

Fp. 296° C, Ausbeute 6,8 g (23 %)

C₁₈ H₁₆ N₆
MG 288.36

IR (KBr) 1625, 1545, 1445, 1385, 1295, 1275, 735

Versuch 5 Co-, Cu- und Fe-Dibenzo (b.i.) (5.9.14.18) tetraaza (14) annulen

1,44 g (0,005 mol) des Produkts aus Versuch 4 werden in 20 ml siedendem DMF gelöst und mit der molaren Menge des entsprechenden Metallsalzes in DMF versetzt. Nach 10 minütigem Erhitzen am Rückfluß und langsamen Erkalten läßt sich der kristalline Niederschlag abfiltrieren. Reinigung durch Sublimation bei 300° C und 0,01 Torr, mit 10 - 12 % Verlust von der Rohausbeute.

a) 1.18 g Kobalt-II-acetat-tetrahydrat. Dunkelviolette Nadeln, Ausbeute 1,47 g (85 %)
C₁₈ H₁₄ N₄ Co IR (KBr) 1470, 1455 sh, 1345, 1320, 1310 sh, 1295, 1255, 740
MG 345.28 gefunden MS 345 Abb. 15

b) 1 g Kupfer-II-acetat-monohydrat. Dunkelbraune Nadeln, Ausbeute 1,52 g (87 %)
C₁₈ H₁₄ N₄ Cu MG 349.88 gefunden MS 349

c) 1,27 g Eisen-II-acetylacetonat. Dunkelbraune Nadeln, Ausbeute 1,56 g (91 %)
C₁₈ H₁₄ N₄ Fe MG 342.19 gefunden MS 342

Versuch 6 Co-, Cu- und Fe-Phthalocyanin

1,28 g o-Dicyanobenzol werden in 100 ml frisch destilliertem Chinolin gelöst. In die siedende Lösung tropfen im 4-fach molaren Überschuß die im gleichen Lösungsmittel gelösten MeACAC. Nach Erkalten, Absaugen (D 3), Waschen mit PYR, BZN wird über Paraffin getrocknet.

a) 2,57 g Co-II-ACAC violett-schimmernde Nadeln, Ausbeute 1,26 g (88 %)
C₃₂ H₁₆ N₈ Co Ber. C 67,25 H 2,82 N 19,61
MG 571,47 Gef. C 63,82 H 2,45 N 17,62
UV (konz. H₂SO₄) 670 nm Lösung rotbraun IR-Nr. 2 Abb. 17

b) 2,62 g Cu-II-ACAC Blaue Nadeln mit kupferfarbenem Oberflächenglanz, Ausbeute 1,32 g (92 %)
C₃₂ H₁₆ N₈ Cu Ber. C 66,72 H 2,80 N 19,45
MG 576,05 Gef. C 66,21 H 2,74 N 19,20
UV (konz. H₂SO₄) 790, 699, 305, 218 nm Lösung grüngelb IR-Nr. 3 Abb. 17

c) 2,54 g Fe-II-ACAC Tiefgrüne Nadeln, Ausbeute 1,29 g (91 %)
C₃₂ H₁₆ N₈ Fe Ber. C 67,62 H 2,84 N 19,71
MG 568,38 Gef. C 65,08 H 2,59 N 18,52
UV (konz. H₂SO₄) 655 nm Lösung tiefgrün IR-Nr. 4 Abb. 17

Versuch 7 Co-, Cu- und Fe-Phthalocyanin

Ausführung wie Versuch 6, anstelle der MeACAC werden die Chloride eingesetzt; und für Kobalt und Eisen gleichzeitig die Wertigkeit geändert

a) 1,65 g Co-III-chlorid Ausbeute 1,16 g (81 %)
b) 1,34 g Cu-II-chlorid Ausbeute 1,21 g (84 %) Prüfung durch IR
c) 1,62 g Fe-III-chlorid Ausbeute 1,11 g (78 %)

Versuch 8 Co-, Cu- und Fe-Phthalocyanin

Ausführung wie Versuch 7 unter Zusatz von Katalysatoren

7a) + 19,6 mg Ammoniummolybdat (1 %) Ausbeute 1,2 g (84 %)
7b) + 39,2 mg Ammoniummolybdat (2 %) Ausbeute 1,31 g (91 %) Prüfung durch IR
7c) + 32,2 mg Zirkonylchlorid-octa-hydrat (1 %) Ausbeute 1,24 g (87 %)

Versuch 9 Co-, Cu- und Fe-Phthalocyanin

Ein fein gemörsertes Gemisch aus 1,48 g Phthalsäureanhydrid, 12 g Harnstoff und den unter Versuch 7 angegebenen Metallchloridmengen wird 8 h unter Rühren im geregelten Metallbad auf 200 ± 10 °C erhitzt. Nach Erkalten, Absaugen (D 3), Auskochen mit verdünnter Salzsäure, Digerieren mit verdünnter Natronlauge, Waschen mit Wasser und Äthanol wird über Kalziumchlorid im Exsiccator getrocknet.

a) 1,65 g Co-III-chlorid	Ausbeute 0,87 g (61 %)	
b) 1,34 g Cu-II-chlorid	Ausbeute 0,91 g (63 %)	Prüfung durch IR
c) 1,62 g Fe-III-chlorid	Ausbeute 0,82 g (58 %)	

Versuch 10 Benzoltetracarbonsäure-(1.2.4.5)-tetraammoniumsalz

In eine 800 ml fassende Kristallisationsschale werden 400 ml 30 %-ige Ammoniaklösung vorgelegt und 218 g Benzoltetracarbonsäure-(1.2.4.5)-dianhydrid vorsichtig eingetragen. Nach 4-stündigem Rühren bei Zimmertemperatur wird abgesaugt, mit Äthanol gewaschen und über Kalziumchlorid getrocknet. Nadeln.

$C_{10}H_{22}N_6O_{10}$ (Trihydrat)	Ausbeute 315,3 g (84 %)
MG 376,32	IR (KBr) 1685, 1585, 1575, 1555, 1495, 1375, 1395

Versuch 11 Benzoltetracarbonsäure-(1.2.4.5)-diimid

269 g Pyromellithsäuretetraammoniumsalztrihydrat werden 12 h auf 200° C erhitzt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute 158,9 g (98 %), Fp. 440° C (Zers.)

$C_{10}H_4N_2O_4$	Ber. C 55,57	H 1,87	N 12,96	IR-Nr. 6	Abb. 19
MG 216,15	Gef. C 55,60	H 1,79	N 13,08		

Versuch 12 Benzoltetracarbonsäure-(1.2.4.5)-tetraamid

150 g des fein gepulverten Pyromellithsäurediimids werden in 300 ml 30 %-ige Ammoniaklösung unter starkem Rühren eingetragen. Nach weiterem 6-stündigem Rühren wird abgesaugt, mit kaltem Wasser und dann mit Alkohol gewaschen. Ausbeute 152,8 g (88 %) Fp. 285° C (Zers. zum Imid)

Versuch 13 Benzoltetracarbonsäure-(1.2.4.5)-tetranitril

Bei der Behandlung einer Suspension von 25 g Pyromellithsäuretetraamid in 400 ml DMF in einem mit Rührer, Gaseinleitungsrohr bei Abscheidung von Feststoffen und Gasableitungsrohr mit 3 hintereinandergeschalteten Waschflaschen mit 30, 20 und 10 %-iger Natronlauge ausgerüsteten 1 l Dreihalskolben innerhalb von 6 h mit Phosgen wird die Temperatur langsam von 10 auf 30° C gesteigert. Nach weiterem 20-stündigem Rühren Abzentrifugieren vom unumgesetzten Amid kommt die Flüssigkeit in 1 l eines Gemisches aus Eis und Wasser, wobei das Tetracyanobenzol als hellbraun gefärbte Masse ausfällt. Umkristallisieren aus Dioxan/Wasser ergibt weiße nadlige Kristalle. Ausbeute 9,8 g (55 %) Fp. 256° C

$C_{10}H_2N_4$	Ber. C 67,42	H 1,13	N 31,45
MG 178,15	Gef. C 66,32	H 1,13	N 30,31

Versuch 14 1.2.4.5-Tetracyanobenzol

125 g Pyromellithsäuretetraamid werden unter Rühren in 1200 ml DMF dispergiert und auf 60° C erwärmt und während 8 h 220 g Thionylchlorid zugetropft. Anschließend wird weitere 24 h bei 60° C gerührt. Aus der vollständig klaren Lösung wird durch Ausgießen auf Eis das Tetracyanobenzol gefällt. Waschen mit Wasser bis kein wahrnehmbarer Geruch nach Thionylchlorid vorhanden ist, dann mit Äthanol nachwaschen und bei 100° C im Trockenschrank trocknen. Ausbeute 74 g (83 %) Fp. 258° C

$C_{10}H_2N_4$	Ber. C 67,42	H 1,13	N 31,45	IR-Nr. 8	Abb. 19
MG 178,15	Gef. C 67,36	H 1,09	N 31,32		

Versuche 15 - 67 Co-, Cu- und Fe-Polyphthalocyanine

Die Darstellung der polymeren Phthalocyanine erfolgt im wesentlichen nach den gleichen Prinzipien, wie bei den monomeren Produkten beschrieben. Wegen der Fülle des Materials erfolgt die Beschreibung der Versuche tabellarisch. Auf folgende Besonderheiten sei hingewiesen: Reaktionen im Einschlußrohr wurden entweder nach 5-maligem Evakuieren und Abschmelzen oder Befüllen mit Stickstoff (Normaldruck) und Abschmelzen ausgeführt. Das Arbeiten unter Stickstoff minimales Nebenreaktionen und wurde auch bei einigen Umsetzungen in Lösung angewandt. Bei den Synthesen im Vakuum waren der Pumpe drei Kühlfallen mit flüssiger Luft, Methanol/CO₂ und Eiswasser vorgeschaltet. Das Aufbereitungsverfahren ist im Text beschrieben (s.S.58). Die in Tab. 6 mit * gekennzeichneten Produkte 27, 60 und 61 wurden im offenen Glühröhrchen 2 Minuten auf 600-700° C erhitzt (Rotglut).

Versuch 68 Titration des Pyromellithsäurediimids

0,4 g Pyromellithsäurediimid werden fein gemörsert und mit 50 ml 0,1 n KOH versetzt. Nach 3-stündigem Rühren bei Zimmertemperatur wird abgesaugt und sorgfältig gewaschen. Die Rücktitration des mit den Waschwässern vereinigten Filtrats mit 0,1 n HCl gegen Methylorange ergibt einen Verbrauch von 36,4 ml. Theoretischer Wert 37 ml.

Versuch 69 Graphitoxidation

In eine Lösung von 10 g Kaliumchlorat in 100 ml eines Gemisches aus konz. Schwefelsäure und Salpetersäure (1:1) werden 5 g Graphit vorsichtig und portionsweise eingetragen. Anschließend wird erhitzt bis keine nitrosen Gase mehr entweichen. Absaugen, Säurefreiwaschen mit Wasser und Trocknen. Ausbeute 5,3 g. Wird der Gewichtszusatz auf Sauerstoff bezogen und die Umsetzung zu 100 % angenommen, entspricht die Ausbeute ungefähr der Zusammensetzung C₂₄O.

Versuch 70 Extraktion von Polyäthylen und Polyamid 6.6

Soxhletapparatur; Extraktionshülsen SCHLEICHER und SCHOLL Nr. 603 22x80 mm
PA: SUPRANYL N 60, KALLE AG 6 Streifen 10x20x0,05 mm à 14 mg
PE: NÖRNBERGER KUNSTSTOFF GESELLSCHAFT 6 Streifen 10x20x0,1 mm à 14 mg
Lösungsmittelfolge: Äthanol, Pyridin (150 Torr), Essigsäure (150 Torr), Benzol
Gewichte der Streifen nach Extraktion: PA 84,85 mg; PE 82,3 mg

Versuch 71 Polyamid 6.6 durch Phasengrenzcondensation

In einem 250 ml Becherglas befinden sich 3,7 g frisch destillierten Adipinsäuredichlorids, gelöst in 100 ml Tetrachlorkohlenstoff. Nach vorsichtigem Oberschichten mit einer Lösung von 6,3 g Hexamethyldiamin in 75 ml Wasser läßt sich an der Grenzfläche mit einer Pinzette der Polyamidfilm herausziehen. Durch Auflegen auf einen Glasstab entsteht ein breiter Streifen, der langsam aus der Lösung gezogen wird. Waschen mit 50 %-igem Äthanol und Wasser, Trocknen bei 30° C im Trockenschrank. Fp. 233° C

Versuch 72 Polystyrol als "lebendes Polymeres"

Monomeres Styrol wird durch zweimaliges Ausschütteln 10 %-iger Natronlauge von Inhibitoren befreit, dreimal mit destilliertem Wasser gewaschen, über Kalziumchlorid getrocknet und im Vakuum unter Stickstoff in ein Schlenkrohr destilliert (Kp. 82° C/100 Torr). Tetrahydrofuran wird solange über Kalium unter Rückfluß gekocht, bis sich bei Zusatz von etwas Benzophenon eine Blaufärbung ergibt. Von dieser Ketylösung wird Tetrahydrofuran unter reinem Stickstoff vor Gebrauch abdestilliert. Sehr reaktives fein verteiltes Natrium entsteht unter Stickstoff beim Erhitzen von 5 g Natrium auf 50 g neutralem Aluminiumoxidpulver auf 170° C unter starkem Rühren. Sämtliche Reaktionen werden unter Ausschluß von Luft und Feuchtigkeit in Schlenkrohrtechnik ausgeführt. Die Initiatorlösung entsteht unter Rühren in 30 min aus 1,28 g Naphthalin (MERCK Art. Nr. 6200) in 100 ml absolutem Tetrahydrofuran durch Zusatz von 5 ml des Natriumpulvers unter Grünfärbung. Zur Bestimmung der Initiatorkonzentration werden 10 ml der

Ver- suche Nr.	0,092	1,8	0,06	Lös- m.	Temp. °C	Druck Torr	Dauer h	Katalysator	Ausb. %	Elementaranalyse % C % H % N
15	20g	PMADA, 10,8g	HS, 9,7g	FeCl ₃	250	-	3	-	13	- - -
16	15g	PMADA, 10,2g	HS, 9,7g	FeCl ₃	250	-	3	-	24	- - -
17	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	250	-	3	-	36	58,8 1,8 12,5
18	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	300	-	3	-	28	- - -
19	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	350	-	3	-	30	52,2 2,2 19,3
20	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	350	Bombe	48	N ₂	32	45,2 3,7 26,4
21	10,9g	PMADA, 45g	HS, 10 g	Fe	300	Bombe	48	ev	9	- - -
22	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	250	10 ⁻²	3	N ₂	28	- - -
23	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	300	10 ⁻²	3	-	23	- - -
24	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	350	10 ⁻²	3	-	15	- - -
25	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	250	-	1,5	N ₂	27	55,7 1,22 22,2
26	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	250	-	6	-	38	- - -
27	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	250	-	14	-	34	53,6 1,8 17,6
28	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	250	-	6	2% (NH ₄) ₂ MoO ₄	51	- - -
29	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	250	-	6	10% (NH ₄) ₂ MoO ₄	46	48,2 2,3 15,4
30	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	250	-	6	20% (NH ₄) ₂ MoO ₄	31	- - -
31	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	250	-	6	2% ZnOCl ₂	48	- - -
32	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	-	-	-	-	0	- - -
33	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	211	-	4	-	13	49,6 1,9 17,9
34	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	213	-	4	-	17	- - -
35	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	237	-	4	-	34	48,8 2,1 19,1
36	10,9g	PMADA, 45g	HS, 8,1g	FeCl ₃	237	-	4	2% (NH ₄) ₂ MoO ₄	47	- - -
37	10,9g	PMADA, 45g	HS, 12,7g	Fe-II-ACAC	237	-	2	-	23	- - -
38	10,9g	PMADA, 45g	HS, 12,7g	Fe-II-ACAC	237	-	4	-	19	- - -
39	10,9g	PMADA, 45g	HS, 17,2g	Fe-III-ACAC	237	-	2	-	31	- - -
40	10,9g	PMADA, 45g	HS, 17,2g	Fe-III-ACAC	237	-	4	-	34	- - -
41	1,8g	TcB, 1,6g	FeCl ₃	-	250	-	3	-	27	- - -

42	1,8g TCB, 1,6g FeCl ₃	CHN	237	-	3	-	33	-	-	-
43	1,8g TCB, 10g Fe	-	250	10 ⁻²	3	-	25	54,6	1,9	13,5
44	1,8g TCB, 1,6g FeCl ₃ + 10g HS	-	350	Bombe	12	N ₂	41	-	-	-
45	1,8g TCB, 1,5g CoSO ₄	-	250	-	3	-	27	-	-	-
46	1,8g TCB, 1,5g CoSO ₄	CHN	237	-	3	-	27	-	-	-
47	1,8g TCB, 1,5g CoSO ₄	-	300	-	12	-	18	-	-	-
48	1,8g TCB, 2,6g Co-II-ACAC	-	300	10 ⁻²	6	-	9	-	-	-
49	1,8g TCB, 3,6g Co-III-ACAC	-	350	-	4	-	12	52,1	2,4	18,6
50	1,8g TCB, 1g CuCl	-	250	-	3	-	25	-	-	-
51	1,8g TCB, 1,3g CuCl ₂	-	300	10 ⁻²	7	34	34	-	-	-
52	1,8g TCB, 2,6g Cu-II-ACAC	-	300	-	12	-	0	-	-	-
53	1,8g TCB, 2,6g Cu-II-ACAC	CHN	237	-	2	-	38	-	-	-
54	10,9g PMADA, 45g HS, 7,8g CoSO ₄	-	250	-	1,5	-	-	-	-	-
55	10,9g PMADA, 45g HS, 5g CuCl	-	250	-	1,5	-	-	-	-	-
56	10,9g PMADA, 45g HS, 7,8g CoSO ₄	CHN	237	-	4	-	41	-	-	-
57	10,9g PMADA, 45g HS, 5g CuCl	CHN	237	-	4	-	44	48,1	1,8	16,1
58	10,9g PMADA, 45g HS, 7,8g CoSO ₄	-	350	-	3	-	-	-	-	-
59	10,9g PMADA, 45g HS, 5g CuCl	-	350	-	3	-	-	45,9	1,2	16,1
60	10,9g PMADI, 45g HS, 7,8g CoSO ₄	-	250	-	14	-	-	-	-	-
61	10,9g PMADI, 45g HS, 5g CuCl	-	250	-	14	-	-	-	-	-
62	44,5g PAA, 10,9g PMADI, 180g HS, 8,1g FeCl ₃	CHN	237	-	4	N ₂	38	-	-	-
63	44,5g PAA, 10,9g PMADI, 180g HS, 7,8g CoSO ₄	CHN	237	-	4	N ₂	37	-	-	-
64	44,5g PAA, 10,9g PMADI, 180g HS, 5g CuCl	CHN	237	-	4	N ₂	-	-	-	-
65	0,46g PAA, 10,9g PMADI, 46,4g HS, 8,1g FeCl ₃	CHN	237	-	4	N ₂	35	53,9	2,2	18,5
66	0,46g PAA, 10,9g PMADI, 46,4g HS, 7,8g CoSO ₄	CHN	237	-	4	N ₂	-	-	-	-
67	0,46g PAA, 10,9g PMADI, 46,4g HS, 5g CuCl	CHN	237	-	4	N ₂	32	-	-	-

Lösung in Wasser hydrolysiert und mit 0,1 n Salzsäure gegen Methylorange titriert (0,0975 mol/l). In ein Schlenkrohr mit 50 ml absolutem Tetrahydrofuran werden tropfenweise Initiatorlösung zugesetzt, bis die grüne Farbe bestehen bleibt, dann 9,75 ml auf einmal hinzugefügt. Nach Abkühlen auf -78° C werden mit einer Spritze unter Rühren und Schwenken 5,2 g (4,7 ml) Styrol eingespritzt. Die Lösung färbt sich rot. Nach 60 min Rühren bei -78° C wird nach jeweiliger Probenahme der Vorgang noch zweimal wiederholt. Proben und Hauptprodukt werden in der 10-fachen Menge Methanol gefällt, einmal umgefällt und bei 50° C getrocknet. Die Proben haben Molekulargewichte von 10 400 und 20 800, das Hauptprodukt 31 200 g/mol.

Versuch 73 PUR, Cyanursäurechlorid, FeOPc

In eine Lösung von 5,4 g Cyanursäurechlorid in 100 ml Äthanol tropft bei 37° C eine Lösung von 1 g ESTANE 5707 F 1 in 100 ml Pyridin. Danach wird 3 h bei 37° C gerührt, vom ausgefallenen Polymeren abgesaugt, mit verdünnter Salzsäure, Äthanol und Benzol gewaschen und bei 50° C getrocknet.

Ber. C 52,94	H 4,94	N 10,98
Gef. C 58,01	H 5,81	N 7,21

d. h. die Umsetzung ist bezogen auf Urethan-N etwa 50 %-ig. Ausbeute 1,72 g.

1 g des obigen Polyurethan-Cyanursäurechlorid-Adduktes wird in 250 ml Pyridin gelöst und in den Vorratskolben einer Soxhlethapparatur gebracht. In die Extraktionshülle werden 300 mg des oligomeren Eisenphthalocyanins aus Versuch 25 eingewogen. Die Apparatur wird 6 h bei 37° C (40 Torr) betrieben. Durch Eingießen der grünen Lösung in Wasser wird das Produkt gefällt. Waschen wie oben, dabei nimmt die Farbintensität ab. Nach dem Trocknen bei 50° C im Trockenschrank wird durch Auflösen in Tetrahydrofuran und Verdunsten des Lösungsmittels eine 0,5 mm starke Folie hergestellt, an der sich der Oberflächen- und Volumenwiderstand nicht bestimmen läßt.

Versuch 74 PUR, Glutardialdehyd, FeOPc

Umsetzung an ESTANE 5707 F 1 und an dem Produkt aus Versuch 25 führen in 40 %-iger wässriger Glutardialdehydlösung in keinem Fall zu isolierbaren Verbindungen mit reaktionsfähiger zweiter Aldehydfunktion. Auch die gemeinsame Reaktion führt zu keinem Erfolg.

Versuch 75 PUR, p,p'-Diphenylmethandiisocyanat, FeOPc

In eine Lösung von 7,5 g p,p'-Diphenylmethandiisocyanat in 50 ml Pyridin tropft unter Rühren bei 60° C eine Lösung von 1 g ESTANE 5707 F 1 in 100 ml Pyridin. Nach weiteren 3 h Rühren wird durch Einbringen in Benzol das Polymere ausgefällt und mit Benzol pyridinfrei gewaschen. Ausbeute 1,7 g.

Ber. C 67,63	H 5,92	N 6,86	IR-Nr. 16	Abb. 25
Gef. C 66,97	H 5,96	N 6,81		

In eine Lösung, die durch Extrahieren von oligomerem Eisenphthalocyanin mit 200 ml Pyridin bei Normaldruck entstanden ist, werden bei 60° C unter kräftigem Rühren in 100 ml Pyridin gelöster Polyurethanallophanatkomplex (1,7 g) getropft. Nach 3-stündigem Rühren wird durch Einbringen in Benzol gefällt, mit dem gleichen Lösungsmittel pyridinfrei gewaschen und bei 50° C getrocknet. Ausbeute 2,8 g

Gef. C 66,02	H 3,46	N 7,23	IR-Nr. 17	Abb. 25
--------------	--------	--------	-----------	---------

Durch Auflösen des zur Gewichtskonstanz getrockneten Produkts in 100 ml Tetrahydrofuran und Verdampfen des Lösungsmittels wird eine 0,5 mm starke Folie hergestellt. Mit den in E. 1. beschriebenen Schneidenkontakten wird der Widerstand dieser Folie bei einer Belastung der Kontakte mit 100 g zu 17 M Ω bestimmt.

Versuch 76 PUR, Hexamethylendiisocyanat, FeOPc

Versuchsdurchführung nach der in Versuch 75 gegebenen Vorschrift. 0,5 g Hexamethylendiisocyanat. Ausbeute 1,3 g. Umsetzung mit FeOPc. Ausbeute 1,8 g. Widerstand (100 g Belastung) 59 M Ω .

Versuch 77 PUR, DPMDI, FeOPc als Pfpopfreaktion

Alle Arbeiten unter Ausschluß von Luft und Feuchtigkeit. Ein Tropfen frisch destillierten p,p'-Diphenylmethandiisocyanats wird in 20 ml Benzol gelöst. Die Lösung tropft im Verlauf von 1 h in einen mit 10 Femoralvenenringen (s.S.100) beschickten 100 ml Benzol enthaltenden Kolben. Unter Rühren wird die Temperatur für 3 weitere Stunden auf 60° C gehalten. Danach werden die Ringe 5 mal mit frischem Benzol gewaschen. Die noch feuchten Ringe werden 10 s lang in eine 40° C warme Lösung mit oligomerem Eisenphthalocyanin gesättigten Pyridins getaucht und anschließend sofort wieder in Benzol gewaschen. Diese Operation wird 5 mal wiederholt. Danach werden die Ringe, die nun ein stumpf-grünes Aussehen aufweisen, 3 h in siedendem Äthanol behandelt, um unumgesetzte Isocyanatgruppen in Urethanbindungen zu überführen. Nach dem Waschen mit kaltem Äthanol wird bei 80° C bis zur Gewichtskonstanz im Vakuum (0,001 Torr) getrocknet.

Versuch 78 PA, DPMDI, FeOPc als Pfpopfreaktion

Ausführung nach Vorschrift Versuch 77 mit folgenden Änderungen:
1 g PA 6.6 aus Versuch 71, Lösungsmittel Pyridin und 2 % Triäthylendiamin DABCO. Das entstandene Produkt wird 3 h mit einer übersättigten Lösung des oligomeren Phthalocyanins behandelt. Widerstand (belastungsunabhängig) 98,7 MΩ.

Versuch 79 Allylaminotrimethylsilan

57 g wasserfreies Allylamin werden mit 73 g Hexamethyldisilazan und 1 g Ammoniumsulfat 12 h unter Rückfluß gekocht und danach bei 110 - 112° C 44 g (68 %) Allylaminotrimethylsilan abdestilliert.

Versuch 80 γ-Aminopropyltriäthoxysilan

Eine Mischung aus 98,3 g Triäthoxysilan und 31,5 g Allylaminotrimethylsilan und 8,3 ml einer 0,2 m Hexachloroplatinsäure in Äthanol wird 4 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Zusatz von 15 ml absolutem Äthanol destillieren 8,9 g Tetraäthoxysilan zwischen 72 und 84° C bei 20 Torr und 29,4 g (51 %) γ-Aminopropyltriäthoxysilan zwischen 110 und 112° C bei 20 Torr ab.

Versuch 81 Oberflächenmodifikation von SiO₂ enthaltendem PDMS

Ein kommerzieller Quarzmehl enthaltender Siliconschlauch SILASTIC 322 der Firma DOW CORNING wird 2 h in BZN gequollen. Dann wird eine weitere Stunde mit einer Lösung aus 5 g γ-Aminopropyltriäthoxysilan behandelt. Nach gründlichem Waschen mit BZN erfolgt die weitere Versuchsdurchführung gemäß dem zweiten Teil des Versuchs 78. Widerstand (belastungsunabhängig) 150 MΩ.

H. ZUSAMMENFASSUNG

Aus der Diskussion der natürlichen Gerinnungsvorgänge ergibt sich, daß der Kontakt der zur Gerinnung erforderlichen Partikel in vivo durch elektrische Kräfte unterbunden wird. Die beteiligten Komponenten Gefäßwand, Thrombozyten und Eiweißgerinnungsfaktoren tragen negativ geladene funktionelle Gruppen wie Carboxyl-, Sulfat- oder Mono-, Di- oder Triphosphatreste. Die bisherige Entwicklung blutverträglicher Materialien zeigt, daß die einfache Übertragung dieser Gruppen auf Kunststoffe nicht zur permanenten Thromboresistenz führt. Als Ursache läßt sich eine Abschirmung der fixierten, statischen Ladungen durch degenerative Adsorption von Blutbestandteilen im Gegensatz zur Regeneration der natürlichen Ladungsträger durch den ständigen Auf- und Abbau im Organismus annehmen.

Ein anderer Mechanismus liegt dem über längere Zeiträume thromboresistenten Verhalten des pyrolytischen Kohlenstoffs zugrunde. Die zur Aufklärung der Thromboresistenz durchgeführten Untersuchungen deuten darauf hin, daß die Blutverträglichkeit an leitenden Oberflächen bei gleichzeitiger Katalyse kathodischer Reaktionen entsteht. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, daß diese Bedingungen auch an einem oligomeren Eisenphthalocyanin realisiert werden können.

Zur Untersuchung von Polymeren als Matrix zur Pfropfreaktion der Redoxkatalysatoren wurde ein spezielles Koagulometer entwickelt. Bereits Dispersionen der Katalysatorpigmente in reinem, molekulareinheitlichen Polystyrol und technischem Polyesterurethan ergeben eine wesentliche Verlängerung der Spontangerinnungszeit. Speziell die Dispersion eines oligomeren Eisenphthalocyanins in Polyurethan führt zu der, nach den elektrochemischen Messungen erwarteten, Verbesserung der Blutverträglichkeit. Als Ursache hierfür konnte die Beteiligung der Urethan-NH-Gruppen an der Koordination der Eisenzentralatome des Katalysators nachgewiesen werden.

Der Nachteil der Dispersion durch Auswaschen oder Herauslösen des Phthalocyanins läßt sich durch die kovalente Verknüpfung des Metallchelats mit der Polymermatrix im Sinne einer Pfropfreaktion verhin-

dern. Der Vorteil der in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Präparationstechnik besteht darin, daß die vorgegebenen Polymereigenschaften erhalten bleiben. Für ein langzeitstabiles Implantat im kardiovaskulären System erweist sich p,p'-Diphenylmethandiisocyanat als das am besten geeignete Verknüpfungsreagenz. Die Spontangerinnungszeit an dem so ausgerüsteten Polyurethan liegt um Größenordnungen über den vergleichbaren Werten unbehandelter Polymere. Es wurden Verknüpfungsreaktionen für Polyurethane, Polyamide und Quarz enthaltende Polydimethylsiloxane entwickelt, die auch eine Anwendung auf andere Polymere erwarten lassen.

Die in vitro nachgewiesene Thromboresistenz wurde mit Hilfe eines neuen in vivo Tests an einem an der Oberfläche mit oligomerem Eisenphthalocyanin kovalent verknüpften Copolyesterurethan tierexperimentell bestätigt. Der besondere Vorteil dieses Testverfahrens besteht darin, daß sich durch den Vergleich behandelter und unbehandelter Materialien im gleichen Versuchstier die Schwierigkeiten durch biologische Streuung vermeiden lassen. Im Vergleich zu den bisher bekannten in vivo Tests erlaubt die im Rahmen dieser Arbeit angewandte Methode die kontinuierliche Messung des Femoralvenenflusses, so daß die durch Thrombose und Thrombolyse bewirkten Flußänderungen in Abhängigkeit von der Zeit registriert werden können.

Die beobachteten Eigenschaften der durch Pfropfreaktion hergestellten Implantate lassen sich durch Ad- und Desorptionsreaktionen des physikalisch im Blut gelösten Sauerstoffs erklären. Eisenphthalocyanine bieten den Vorteil, als Katalysatoren die Ad- und Desorption des Sauerstoffs mit der notwendigen hohen Geschwindigkeit ablaufen zu lassen. An dem Adsorptionsgleichgewicht beteiligen sich Fibrinogenmoleküle durch Bindungen über Tryptophanreste an den Metallkomplex. Bei dieser Adsorption bleibt die native Konformation des Proteins erhalten, so daß die Thrombozytenadsorption ähnlich den Verhältnissen im natürlichen Gefäßsystem verhindert werden kann.

I. VERWENDETE SYMBOLE

a	Aktivität
ACAC	Acetylacetonat
AHF	Antihämophiliefaktor
Ala	Alanin
APTES	γ -Aminopropyltriäthoxysilan
Asp	Asparaginsäure
Arg	Arginin
BZN	Benzol
CHN	Chinolin
Cys	Cystein
DABCO	Diazabicyclo (2.2.2)octan
DCB	o-Dicyanobenzol
DMF	Dimethylformamid
ΔE	Aktivierungsenergie
E_o	Ruhespannung
E_o^σ	Standardruhespannung
ED	Äthylenglykol (Ethylendiol)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EP	Epoxidharze (Gattungsname)
F	Faraday-Konstante
FA	Formamid
FSF	Fibrinstabilisierender Faktor
F_p	Schmelzpunkt
Glu	Glutaminsäure
Gly	Glycin
His	Histidin
HS	Harnstoff
I	Strom
Ile	Isoleucin
IR	Infrarot
J	Joule
k	Boltzmann-Konstante
Kp	Kochpunkt
Leu	Leucin
MG	Molekulargewicht

Leu	Leucin
MG	Molekulargewicht
M_w	Gewichtsmittel des Molekulargewichts
M_n	Zahlenmittel des Molekulargewichts
MS	Massenspektrum
OPc	oligomeres Phthalocyanin
ϕ -	Phenyl-
p	Druck
PA	Polyamid (Gattungsname)
PAA	Phthalsäureanhydrid
PC	Polycarbonat (Gattungsname)
Pc	monomeres Phthalocyanin
PDMS	Polydimethylsiloxan
PE	Polyäthylen
PETP	Polyäthylenglykolteterephthalat
Phe	Phenylalanin
PMADA	Pyromellithsäuredianhydrid
PMMA	Polymethylmethacrylat
PP	Polypropylen
PPc	polymeres Phthalocyanin
PS	Polystyrol
PTA	Plasma Thrombin Antecedent
PTFE	Polytetrafluoräthylen
PUR	Polyurethan (Gattungsname)
PVC	Polyvinylchlorid
PYC	pyrolytischer Kohlenstoff
Pyr	Pyroglutaminsäure
R	Gaskonstante
R	Widerstand
Si	Silicon (Gattungsname)
SGZ	Spontangerinnungszeit
σ	Leitfähigkeit
σ_0	Leitfähigkeit bei $T = 0$
T	absolute Temperatur
TAA	Dibenzo(b.i.)(5.9.14.18)tetraaza(14)annulen
TCB	Tetracyanobenzol
Thr	Threonin

Trp	Tryptophan
Tyr	Tyrosin
U	Uneinheitlichkeit
V_E	Elektrodenpotential
Val	Valin

J. LITERATUR

- (1) H.G. Mond, J.K. Clarebrough, J.T. Dowling, G. Sloman und G. Westlake, "Entrapment of the Metall Ball in Series 6310 and 2310 Starr-Edwards Prosthetic Valves", J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 64, 186-192 (1972)
- (2) D.J. Lyman, "Biomedical Polymers", Ann. N. Y. Acad. Sci. 146, 30-48 (1968)
- (3) H. Fasold, "Die Struktur der Proteine", Verlag Chemie (1972)
- (4) F. Duckert, "Einige Aspekte der Biochemie der Blutgerinnung", Chemie in unserer Zeit 1, 1-9 (1975)
- (5) P. Karlson, "Kurzes Lehrbuch der Biochemie", Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1970)
- (6) W.H. Seegers, "Blood Clotting Enzymology", Academic Press (1967)
- (7) S. Magnusson, "Primary Structure Studies on Thrombin and Prothrombin", Thrombos. Diathes. haemorrh. Suppl. 54, 31 (1973)
- (8) W. Krakow, G.F. Endres, B.M. Siegel und H.A. Sheraga, "An Electron Microscopic Investigation of the Polymerisation of Bovine Fibrin Monomer", J. Mol. Biol. 71, 95-103 (1972)
- (9) H.U. Siebeneick, "Die Biochemie der Schlangengifte", Chemie in unserer Zeit 2, 33-41 (1976)
- (10) P.N. Sawyer, W.H. Brattain und P.J. Boddy, "Electrochemical Criteria in the Choice of Materials Used in Vascular Prosthesis", in "Biophysical Mechanisms in Vascular Homeostasis and Intravascular Thrombosis", edited by P.N. Sawyer, Appleton-Century-Crofts, New York, 337-348 (1965)
- (11) J.D. Whiffen, R. Dutton, W.P. Young und V.L. Gott, "Heparin Application to Graphite Coated Intravascular Prostheses", Surgery 56, 404-412 (1961)

- (12) V.L. Gott, D.E. Koepke, R.L. Dagett, W. Zarnstorff und W.P. Young, "The Coating of Intravascular Plastic Prosthesis with Collodial Graphite", Surgery 50, 382-389 (1961)
- (13) G. Grode, R. Falb und S. Anderson, "Development of Materials for the Use in Circulatory Assist Devices", Proc. Artif. Heart Prog. Conf., Washington D. C., 59 (1969)
- (14) R.L. Merker, L.J. Elyash, S.H. Mayhew und J.Y.C. Wang, "The Heparinization of Silicone Rubber using Aminoorganosilane Coupling agents", Proc. Artif. Heart Prog. Conf., Washington D. C., 29 (1969)
- (15) I.O. Salyer und W.E. Weesner, "Materials and Components for Circulatory Assist Devices", Proc. Artif. Heart Prog. Conf., Washington D. C., 59 (1969)
- (16) US-Patent Nr. 3.562.352.am 09-02-1971 an Emery Nyilas (Anmelder) für Avco Corporation, Cincinnati, Ohio
- (17) E. Nyilas, "Development of Blood-Compatible Elastomers: Theory, Practice and in vivo Performance", 23. Ann. Conf. Eng. Med. Biol., Washington D. C., 17-11-1970
- (18) M.K. Vogel, R.A. Cross, H.J. Bixler und R.J. Guzman, "Medical Uses for Polyelectrolyte Complexes" in "Biomedical Polymers" edited by A. Rembaum und M. Shen, Marcel Dekker, New York, 181-198 (1971)
- (19) J.C. Bokros, V.L. Gott, L.D. La Grange, A.M. Fadall und M.D. Ramos, "Heparin Sorptivity and Blood Compatibility of Carbon Surfaces" J. Biomed. Mater. Res. 4, 145-187 (1970)
- (20) P.N. Sawyer und J.W. Pate, "Bio-Electric Phenomena as an Etiologic Factor in Intravascular Thrombosis", Am. J. Physiol. 175, 103-107 (1953)
- (21) M. Schaldach, R. Thull, P. Baur Schmidt und R. Blaser, "Electrooptische Untersuchungen zum Koagulationsmechanismus des Systems Fibrinogen-Fibrin", Ber. Bunsenges. 77, 794-798 (1973)

- (22) G.E. Stoner, "Protein Interactions with Materials as Related to Thromboresistance", *Biomat. Med. Dev. Artif. Org.* 1, 155-162 (1973)
- (23) A. Kozawa, V. Zilionis und R. Brodd, "Electrode Materials and Catalysts for Oxygen Reduction in Isotonic Saline Solution", *J. Electrochem. Soc.* 117, 1474-1478 (1970)
- (24) M. Schaldach, "Entwicklungsaussichten der Schrittmacherbehandlung in technischer Hinsicht", *Verh. Deutsch. Ges. Kreislaufforsch.* 35, 127-139 (1969)
- (25) H. Jahnke, "Kathodische Reduktion von Sauerstoff an organischen Katalysatoren in Schwefelsäure", *Bunsentagung für Physikalische Chemie in Augsburg am 24-05-1968*
- (26) F. Beck, W. Dammert, J. Heiss, H. Hiller und R. Polster, "Elektrokatalyse der Sauerstoffkathode durch Metall-Phthalocyanine und -Dibenzotetraazaannulene", *Z. Naturforsch.* 28a, 1009-1021 (1973)
- (27) F.H. Moser und A.L. Thomas, "Phthalocyanine Compounds", *Reinhold Publishing Corp.*, New York (1963)
- (28) A.N. Siderov und J.P. Kotlyar, "Infrared Spectra of Phthalocyanines", *Opt. Spektroskopia* 11, 175-184 (1961)
- (29) D.R. Boston und J.C. Bailar, Jr., "Phthalocyanine Derivatives from 1.2.4.5-Tetracyanobenzene or Pyromellitic Dianhydride and etal Salts", *Inorg. Chem.* 11, 1578-1583 (1972)
- (30) D. Wöhrle, "Polymere aus Nitrilen", *Advan. Pol. Sci.* 10, 35-107 (1972)
- (31) A. Epstein und B. Wildi, "Electrical Properties of Poly-Copper-Phthalocyanines", *J. Chem. Phys.* 32, 324-329 (1960)
- (32) E.A. Lawton und D.D. McRitchie, "Synthesis of Pyromellitonitril and Related Compounds", *J. Org. Chem.* 24, 26-28 (1959)
- (33) K. Bürker, "Blutplättchen und Blutgerinnung", *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 102, 36-94 (1904)

- (34) P.W. Morgan, "Condensation Polymers by Interfacial and Solution Methods" Polymer Reviews 10 (1965)
- (35) M. Szwarc, "Carbanions Living Polymers and Electron Transfer Processes", Interscience Publ., New York (1968)
- (36) D.O. Hummel und F. Scholl, "Atlas der Kunststoff-Analyse", Carl Hanser Verlag, München (1968)
- (37) R.I. Lee und P.D. White, "A Clinical Study of the Coagulation Time of Blood", Amer. J. med. Sci. 145, 495-503 (1913)
- (38) H. Hartert, "Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren", Klin. Wschr. 26, 577-583 (1948)
- (39) K. Affeld, J. Berger und R. Müller, "Das MTEG - ein neuer in vitro-Test für Blut-Kontakt-Materialien", Biomed. Tech. 20, 55-56 (1975)
- (40) J. Bross, "Sequential Medical Plans", Biometrics 8, 188-205 (1952)
- (41) F. Wilcoxon, "Individual Comparisons by Ranking Methods", Biometrics 3, 119-122 (1944)

Lebenslauf

- 01-01-1946 in Bad Elster (Vogtland) geboren,
- 01-09-1952 Volksschule Siebenbrunn
- 01-04-1953 erneute Einschulung, St. Marienschule Berlin-Neukölln,
2. Klasse übersprungen
- 01-04-1958 Robert-Koch-Schule, 2. OWZ Berlin-Kreuzberg,
Math.-Nat. Gymnasium
- 03-03-1965 Abitur
- 06-04-1965 Chemiestudium an der Freien Universität Berlin
- 13-04-1971 Diplom; Diplomarbeit: Bestimmung der Beweglichkeit des
Bromidions
- 01-04-1968 Stipendiat der Fritz ter Meer-Stiftung
- 01-04-1969 stud. Hilfskraft am Institut für Organische Chemie der
Freien Universität Berlin
- 20-05-1970 stud. Hilfskraft am Institut für Anorganische Chemie der
Freien Universität Berlin
- 14-04-1971 wiss. Assistent am Institut für Anorganische Chemie der
Freien Universität Berlin
- 01-09-1971 wiss. Angestellter am Zentralinstitut für Biomedizinische
Technik der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-
Nürnberg

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109 (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990